Über die Trennung und Charakterisierung von Hydroxyfettsäuren

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Friedrich Wilhelm Hempelmann
aus Kettwig

1962

Über die Trennung und Charakterisierung von Hydroxyfettsäuren

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Friedrich Wilhelm Hempelmann
aus Kettwig

1962

1.Berichterstatter: Professor Dr.A.Butenandt
2.Berichterstatter: Professor Dr.E.Bamann

Tag der mündlichen Prüfung: 19.Dezember 1962.

Druck und Einband: Rudolf Stehle Düsseldorf Klosterstr. 114 Tel. 35 03 73

UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Die vorliegende Arbeit wurde im Max-Planck-Institut für Biochemie in München unter Leitung von Herrn Professor Dr.A.Butenandt durchgeführt. Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Adolf Butenandt, der mir dabei vielfältige Anregungen und seine großzügige Unterstützung zuteil werden ließ, schulde ich herzlichen Dank.

Herrn Dozent Dr.Ernst Biekert, inzwischen in Ludwigshafen (Rhein), bin ich für fördernde Hinweise und Ratschläge und die eingehende Besprechung der Infrarot-Spektren sehr dankbar.

Herrn Dozent Dr.E.Hecker danke ich für seinen erfahrenen Rat bei der Anwendung von Verteilungsverfahren und Herrn Dr.W.Schäfer für die hilfreiche Diskussion während der Abfassung des Manuskriptes.

Die Durchführung der Ultraviolett- und Infrarot-Messungen danke ich Frl. G.Schild und Frl. I.Köhler. Frl. Köhler und Herr Dr. Th.Funck zeigten besonderes Entgegenkommen und Geschick bei der Anfertigung einer Mikrozelle für den IR-Spektrographen zur Messung kleinster Substanzmengen in Lösung, wofür ihnen auch hier gedankt sei.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546009_0073

Inhaltsübersicht

A. Einleitung 7

B. Darstellung der Hydroxyfettsäuren und ihrer Ester

1. 2-Hydroxy-stearinsäure-methylester 12

2. 12-Hydroxy-stearinsäure-methylester 13

3. 18-Hydroxy-stearinsäure-methylester und 2-(16'-Hydroxyhexadecyl)-malonsäure-dimethylester . 14

C. Darstellung der 4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-(4)-ester der Hydroxyfettsäureester 18

D. 3-Hexadecyl-(1,4)-benzoxazinon-(2) 23

E. Trennverfahren

1. Craig-Verteilung 25

a. Methylester der Hydroxyfettsäuren 26

b. Freie Säuren 29

c. 4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-(4)-Derivate . . 33

2. Adsorptionschromatographie 36

3. Dünnschichtchromatographie 38

F. Infrarot-Spektren 41

G. Zusammenfassung 44

H. Beschreibung der Versuche 46

H. I. Darstellung der Hydroxyfettsäuren, ihrer Ester und des 3-Hexadecyl-(1,4)-benzoxazinon-(2)

1. 2-Hydroxy-stearinsäure-methylester und 3-Hexadecyl-(1,4)-benzoxazinon-(2) 47

2. 12-Hydroxy-stearinsäure-methylester 49

3. 18-Hydroxy-stearinsäure-methylester 53

II. Darstellung der 4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure - Derivate 58

III. Reinigung der NABS-Derivate durch Adsorptionschromatographie 59

IV. Trennung der NABS-Derivate des 12- und des 18-Hydroxy-stearinsäure-methylesters durch Adsorptionschromatographie 6o

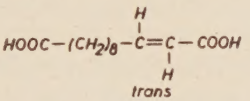
V. Nachweis der NABS-Derivate durch Dünnschichtchromatographie 61

VI. Beschreibung der dargestellten NABS-Derivate . . . 62

Lebenslauf 66

A. Einleitung

In der Biochemie erwecken langkettige Fettsäuren und Alkohole steigendes Interesse.
So erwiesen sich Linol-, Linolen- und Laurinsäure als pflanzliche Wundhormone von größerer Wirksamkeit als sie der als Wundhormon bereits länger bekannten Traumatinsäure



zukommt[1]. Höhere Fettalkohole können die Funktion eines pflanzlichen Wuchsstoffes übernehmen[2].
Im Insektenreich sind einige Fettsäuren oder ihre Ester und ein höherer Aldehyd als Fraß-, bzw. Sexuallockstoffe wirksam[3]. Kürzlich wurden die ersten beiden natürlichen Sexuallockstoffe isoliert und in ihrer Konstitution aufgeklärt. Zuerst der Lockstoff des Seidenspinners Bombyx mori L. durch Butenandt u.Mitarb.[4,5,6], gleich darauf der ähnlich gebaute Lockstoff des Schwammspinners Lymantria dispar L. durch Jacobson und Mitarbeiter[7]. Das Sekret

---

1 A.J.Haagen-Smit, D.R.Viglierchio, Recueil Trav.chim.Pays-Bas 74, 1197 (1955).

2 A.J.Vlitos, D.G.Crosby, Nature (London) 184, 462 (1959).

3 N.Green, M.Beroza, S.A.Hall, Advances in Pest Control Research 3, 129 (1960).

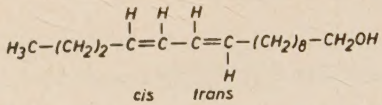
4 A.Butenandt, R.Beckmann, D.Stamm, E.Hecker, Z.Naturforschg. 14b, 283 (1959).

5 A.Butenandt, R.Beckmann, E.Hecker, Hoppe-Seyler's Z.physiol. Chem. 324, 71 (1961).

6 A.Butenandt, R.Beckmann, D.Stamm, ibid. 324, 84 (1961).

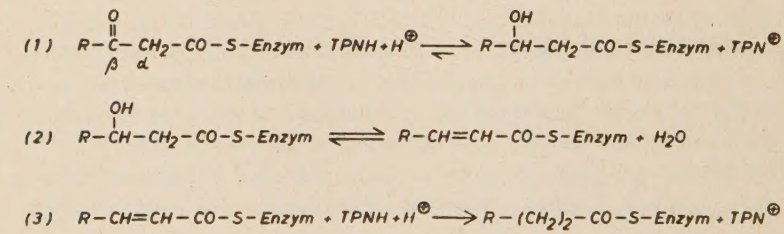
7 M.Jacobson, M.Beroza, W.A.Jones, Science 132, 1011 (1960).

der Duftdrüsen des weiblichen Seidenspinners enthält außer dem wirksamen Hexadecandien-(1o,12)-ol-(1), dem Bombykol,



auch die analoge Säure und verschiedene andere höhere Fettsäuren, die jedoch ohne Lockstoffwirkung sind[8].

Für die Biosynthese der Fettsäuren sicherten F.Lynen und seine Mitarbeiter die Reihenfolge der Reaktionsschritte und stellten eine Theorie des Multienzymkomplexes auf[9]. Man wußte bereits lange, daß der Aufbau der Kohlenstoffkette durch wiederholte Verlängerung um jeweils zwei Kohlenstoffatome vom CH_3-Ende her erreicht wird. Nach dem kürzlich mit Hilfe eines gereinigten Enzyms aus Hefe aufgeklärten Mechanismus dieser Additionsreaktion werden zwischen zwei Kettenverlängerungen eine Carbonyl- und eine Hydroxy-Zwischenstufe durchlaufen. Diese Metaboliten sind an ein sulfhydrylhaltiges Enzym gebunden, mit dem ihre Carboxylgruppe eine Thioester-Bindung eingeht:



(R = $H_3C-(CH_2-CH_2)_n-$). Es wird eine β-Keto-acyl-Verbindung durch hydriertes Triphosphopyridinnucleotid zur β-Hydroxy-Verbindung hydriert (1), aus der nach Wasserabspaltung zum α,β-ungesättigten System (2) und Hydrierung das gesättigte Acyl-S-Enzym entsteht (3). Dieses kann eine neue Kettenverlängerungsreaktion eingehen.

---

8 A.Butenandt, E.Hecker, S.Zayed, unveröffentlicht.

9 F.Lynen, M.Tada, Angew.Chem. 73, 513 (1961).

Es ist denkbar, daß die in der Reaktionsfolge auftretende enzymgebundene β-Hydroxycarbonsäure (1) eine Zwischenstufe in der Biosynthese der Hydroxyfettsäuren ist, die in der Natur weit verbreitet sind[10]. Wenn nach einer ausgebliebenen Eliminierung der Hydroxylgruppe (2) auch die β-Hydroxy-acylverbindung eine Kettenverlängerungsreaktion eingehen kann, ist die Bildung von Fettsäuren auch mit mittelständiger Hydroxylgruppe erreicht.

Die beobachtete Bildung von ungesättigten Fettsäuren durch Auslassung des Hydrierungsschrittes (3) in Clostridium butyricum[11] stünde als Analogiefall mit einer solchen These im Einklang.

Zumindest bei der Hefe jedoch scheint eine solche Biogenese von Hydroxyfettsäuren nicht möglich zu sein, denn inkubierte Hydroxyfettsäure (gebunden an Coenzym A) wurde in ihrer Kette nicht verlängert[12].

Ferner muß auf die Tatsache hingewiesen werden, daß die natürlichen Monohydroxyfettsäuren mit wenigen Ausnahmen ihre Hydroxylgruppe an einem gradzahligen Kohlenstoffatom tragen. Eine Hydroxylgruppe, die ihren Ursprung in einer nicht erfolgten Eliminierung des β-Hydroxyls (1) hat, muß sich aber an einem ungradzahligen C-Atom befinden.

Einen größeren Grad von Wahrscheinlichkeit hat die These, nach der die Hydroxylgruppen erst nach Fertigstellung der ganzen Fettsäure-Kette in die Molekel eingeführt werden.

Anhaltspunkte bieten verschiedentlich beobachtete Überführungen von markierten gesättigten in ungesättigte Fettsäuren mittels Homogenaten oder zellfreien Systemen. Dabei ist die Anwesenheit von hydriertem Triphosphopyridinnucleotid und von Sauerstoff notwendig, die in einer Oxygenase-Reaktion zusammenwirken. Die vermutete intermediäre Bildung einer Hydroxycarbonsäure, die gemäß

---

10 Beilsteins Handb.d.org.Chem. Bd.III, System-Nr.223; C.G.Tomecko, R.Adams, J.Amer.chem.Soc. 49, 522 (1927); D.Swern in "Progress in the Chemistry of Fats and other Lipids", Pergamon Press, London und New York 1955, Bd.III, S.218, 240; F.D.Gunstone in "Progress in Organic Chemistry", Butterworths Scientific Publications, London 1958, Bd.IV, S.1; J.Polonsky, E.Lederer, Bull.Soc.chim.France (1954), 504.

11 H.Goldfine, K.Bloch, J.biol.Chemistry 236, 2596 (1961); G.Scheuerbrandt, H.Goldfine, P.E.Baronowsky, K.Bloch, ibid. 236, PC 70 (1961).

12 F.Lynen, Vortrag vor der GDCh-Ortsgruppe München, Nov.1961.

$$-CH_2-CH_2- \xrightarrow{[O]} -\overset{OH}{\underset{|}{CH}}-CH_2- \xrightarrow{-H_2O} -CH=CH-$$

durch Wasserabspaltung in die ungesättigte Säure übergehen soll, konnte bis jetzt nicht gesichert werden[13].

Ein Abbruch der Reaktion nach der Oxydation würde das Vorkommen von Hydroxyfettsäuren erklären.

Die Bildung von Hydroxyfettsäuren aus ungesättigten Fettsäuren wurde vor einiger Zeit von E.Schauenstein und Mitarbeitern diskutiert[14]. Die Autoren verrührten Linolsäure mit Wasser in Abwesenheit von Mineralsäuren oder anderen Katalysatoren unter angeblichem Ausschluß von Sauerstoff[15], wobei die Fettsäure in Lösung ging[16]. Dabei wiesen die Absorptionen im ultravioletten Bereich auf Veränderungen am System der Doppelbindungen der Linolsäure hin; Infrarot-Spektren zeigten eine neu aufgetretene O-H Valenzschwingungsbande.

Schauenstein deutete diese "Wasserreaktion" als Hydroxylierung der Linolsäure durch Anlagerung von Wasser, H-OH, an ihre Doppelbindungen.

Berücksichtigt man, daß Hydroxylgruppen (-OH), wie auch Hydroperoxyde (-OOH) über eine O-H Bindung verfügen und daß deren nur wenig unterschiedliche O-H Valenzschwingungen im Infrarot nur bei Verwendung eines Calcium- oder Lithiumfluorid-Prismas unterschieden werden können[17], so schien es besonders wünschenswert, die Produkte der "Wasserreaktion" auf ihre Identität mit Hydroxyfettsäuren zu untersuchen.

Später wurden Hydroperoxyde von Schauenstein und Mitarbeitern in den Kreis der Betrachtungen einbezogen[18].

13 K.Bloch, P.Baranowsky, H.Goldfine, W.J.Lennarz, R.Light, A.T.Norris, G.Scheuerbrandt, Federation Proc. 2o, 921 (1961).

14 E.Schauenstein, J.H.Biheller, Mh. Chem. 88, 132 (1957).

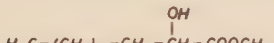
15 In einer späteren Veröffentlichung wurde die Anwesenheit von Sauerstoff als wesentlich bezeichnet; E.Schauenstein, G.Schatz, Fette Seifen einschl. Anstrichmittel 61, 1o68 (1959).

16 Engl.Pat. 808 272, zit. C.A. 53, 11771h (1959), Amer.Pat. 2 919 287, zit. C.A. 54, 6o4of (196o).

17 L.R.Dugan, B.W.Beadle, A.S.Henick, J. Amer. Oil Chemist's Soc. 26, 681 (1949), zit.C.A. 44, 1331a (195o).

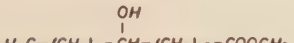
18 H.Bayzer, J.Biheller, H.Gaisch, E.Schauenstein, Mh.Chem. 89, 258 (1958).

Eine Bearbeitung der oben besprochenen Probleme ist nur dann möglich, wenn man über analytische Methoden verfügt, mit denen ähnlich gebaute Hydroxyfettsäuren getrennt und sicher charakterisiert werden können.
Das Ziel dieser Arbeit war darum, einige in ihrer Konstitution ähnliche Hydroxyfettsäuren darzustellen und mit neueren analytischen Methoden ihre Trennung und Charakterisierung nebeneinander zu untersuchen. Es kamen in Betracht Verteilungsverfahren, Derivatbildung und Spektroskopie.
Um den Einfluß der räumlichen Stellung der Hydroxylgruppe zur Carboxylgruppe zu berücksichtigen, wurden folgende Hydroxyfettsäuren, bzw. ihre Methylester für die Arbeit ausgewählt:



Methylester der 2-Hydroxy-stearinsäure

I



" der 12-Hydroxy-stearinsäure

II

" der 18-Hydroxy-stearinsäure

III

B. Darstellung der Hydroxyfettsäuren und ihrer Ester

1. 2-Hydroxy-stearinsäure-methylester
(2-Hydroxy-octadecan-1-säure-methylester, I)

2-Hydroxy-stearinsäure-methylester (I) wurde nach einer Vorschrift von Mendel und Coops aus Stearinsäure dargestellt[19]. Die Reaktionsschritte sind in Abbildung 1 zusammengestellt.

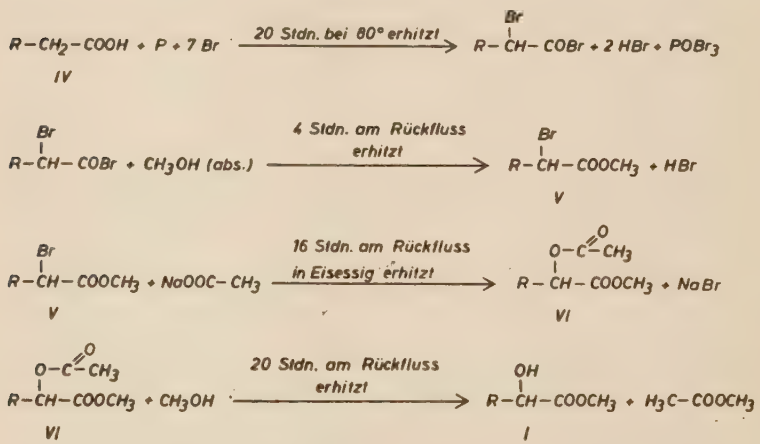


Abb.1. Darstellung des 2-Hydroxystearinsäuremethylesters (I) nach [19]; R = $H_3C-(CH_2)_{15}-$.

Stearinsäure (IV) wird über das α-Brom-carbonsäurebromid in den α-Brom-stearinsäure-methylester (V) übergeführt. Durch Umsetzung

[19] H.Mendel, J.Coops, Recueil Trav. chim. Pays-Bas 58, 1133 (1939).

mit Eisessig erhält man daraus das α-Acetoxy-Derivat VI, aus dem durch Umesterung mit Methanol der α-Hydroxy-stearinsäure-methylester (I) in einer Gesamtausbeute von 5o % gewonnen wird.

2. 12-Hydroxy-stearinsäure-methylester
(12-Hydroxy-octadecan-1-säure-methylester, II)

Für die Darstellung der 12-Hydroxy-stearinsäure (VIII) ist die in der Natur mehrfach vorkommende Ricinolsäure (VII) ein günstiges Ausgangsprodukt[2o]:

VII VIII

Die Überführung wurde in vielen Fällen durch katalytische Hydrierung der Ricinolsäureester erreicht[21-25]. Versuche an der freien Säure waren nicht immer erfolgreich[23,26]. Als Lösungsmittel für die Hydrierung bewährte sich Eisessig[21,22]. Bei Verwendung von Nickel-Katalysatoren sind höhere Temperaturen und Drücke erforderlich[24,25], mit Platin- und Palladium-Katalysatoren verläuft die Hydrierung der Hydroxy-ester bereits unter Normalbedingungen[21-23,27].

[2o] A.Kasansky, J. Russ. Physik.-chem. Ges. 32, 149 (1900), zit. C. 1900 II, 37.

[21] F.Sigmund, F.Haas, Mh.Chem. 50, 357 (1928).

[22] F.Straus, H.Heinze, L.Salzmann, Ber. dtsch. chem. Ges. 66, 631 (1933).

[23] A.Grün, M.Woldenberg, J. Amer. chem. Soc. 31, 5o4 (1909), C. 1909 I, 1749.

[24] A.Brochet, Bull. Soc. chim. France [4], 33, 63o (1923).

[25] A.Grün, W.Czerny, Ber. dtsch. chem. Ges. 59, 54 (1926).

[26] S.Fokin, J. Russ. Physik.-chem. Ges. 44, 653, zit. C. 1912 II, 2058.

[27] A.Butenandt, H.Rembold, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 308, 284 (1957).

Auch Hydrazinhydrat in Verbindung mit einem Oxydationsmittel kann zur Hydrierung der Ricinolsäure verwendet werden[28,29]. In dieser Arbeit wurde zur Gewinnung des 12-Hydroxy-stearinsäure-methylesters (II) der Ricinolsäure-methylester (IX) mit Platinmohr in Eisessig nach Straus, Heinze und Salzmann[22] katalytisch hydriert.

Nach dieser Methode ließ sich auch aus der freien Ricinolsäure (VII) die 12-Hydroxy-stearinsäure (VIII) in 67-proz.Ausbeute erhalten.

Da zu erwarten war, daß bei der Reinigung des Hydrierungsproduktes durch Craig-Verteilung die durch Eliminierung des Ricinolsäure-Hydroxyls entstandene Stearinsäure (IV) sich besser abtrennen ließe, als nicht hydrierte Ricinolsäure (VII), wurde über die stöchiometrische Wasserstoffaufnahme hinaus hydriert. Im Ausgangsprodukt hatte das Verhältnis VII zu IV etwa 1oo : 12 betragen, wie eine Abschätzung der Kurvenflächen der Craig-Verteilung von VII zeigt (Abb.5, S. 31). Nach der Hydrierung standen VIII und IV zueinander im ungefähren Verhältnis wie 1oo : 25 (Abb.6, S.32); vergl. S.30.

3. 18 - Hydroxy - stearinsäure - methylester (18-Hydroxy-octadecan-1-säure-methylester, III), 2 - (16'- Hydroxyhexadecyl) - malonsäure-dimethylester (2-Carboxymethyl-18-hydroxy-octadecansäure-methylester, XVIII)

18-Hydroxy-stearinsäure-methylester (III) wurde aus Hexadecandiol-(1,16) (X) durch Kettenverlängerung mittels einer Malonesterkondensation erhalten (Reaktionsschema Abb. 2).

---

28 J.Vořišek, Chem.Listy 28, 57 (1934), zit. C. 1934 II, 3494.

29 F.Aylward, C.V.N.Rao, J.appl.Chem. 6, 559 (1956), C. 1958, 1425.

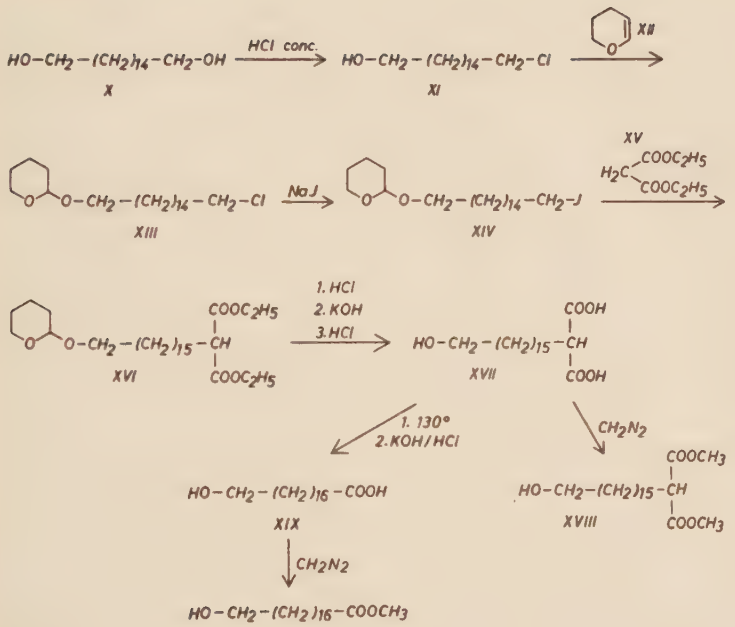


Abb. 2. Gewinnung von 18-Hydroxy-stearinsaure-methylester (III) und 2-(16'-Hydroxyhexadecyl)-malonsäure-dimethylester (XVIII) aus Hexadecandiol-(1,16) (X) durch Malonestersynthese.

Malonestersynthesen auf dem Fettsäuregebiet wurden erstmals von Robinson und Robinson versucht[30]; eine von Günthard, Heinemann und Prelog mit einer längeren Alkylkette ausgeführte Malonestersynthese zeigt, daß die Verseifungs- und Decarboxylierungsschritte die ausbeutemindernden Stufen sind[31].

Zunächst mußte eine der beiden Hydroxylgruppen des Hexadecandiol gegen Halogen ausgetauscht werden. Dies gelingt durch Kochen mit konz. Salzsäure, wenn man das gebildete Monochlorprodukt (Chlor-

30 G.M.Robinson, R.Robinson, J.chem.Soc.(London) 127, 175 (1925).
31 H.H.Günthard, S.D.Heinemann, V.Prelog, Helv. chim. Acta 36, 1147 (1953).

hydrin XI) laufend aus dem Reaktionsansatz entfernt und damit eine Austauschreaktion auch am zweiten Hydroxyl verhindert wird.

Bei niederen α,ω-Diolen ist in einem zweiphasigen Reaktionsmedium das Diol besser in der wässrigen, stark salzsauren Schicht löslich, das gebildete Chlorhydrin besser in der organischen Phase. Die Trennung gelingt in diesen Fällen mit einem kontinuierlich extrahierenden Perforationsverfahren[32].
Mit wachsender Kettenlänge verlieren die funktionellen Gruppen ihren bestimmenden Einfluß auf die Löslichkeitsverhältnisse. Dann ist auch das Diol im heißen Extraktionsmittel löslich und wird der Reaktion ständig entzogen. Man muß nun zu diskontinuierlichen Arbeitsweisen übergehen, wie es für das C_{18}-Diol beschrieben wurde[33].

Das C_{16}-Diol X wurde in Anlehnung an die letzterwähnte Vorschrift von Pattison u. a.[33] in einer mehrmals wiederholten Umsetzung mit konz. Salzsäure und wenig Petroläther in einer Rohausbeute von 70 % in 16-Chlor-hexadecanol-(1) (XI) überführt.

Um zu verhindern, daß unter den Bedingungen der Kondensation mit Malonester aus der endständigen Hydroxylgruppe des Chlorhydrins XI Wasser abgespalten wurde, mußte sie durch Derivatbildung geschützt werden. Als Schutzgruppe wurde der im Alkalischen stabile Tetrahydropyranylrest[34] gewählt. Die Pyranylierung der Hydroxylgruppe wurde erreicht durch Zugabe eines Überschusses Dihydropyran (XII) und einer katalytischen Menge Mineralsäure. Der Überschuß an XII wurde über Hydrogenkarbonat i.V. abdestilliert. Die spätere Wiederabspaltung der Schutzgruppe im sauren Medium in Gegenwart von Alkohol läßt sich als Umacetalisierung auffassen.

Nach einem Vorversuch der Malonestersynthese mit dem pyranylierten Chlorhydrin (XIII) wurde aus dem Reaktionsansatz viel nicht umgesetztes Chlorhydrin XI zurückgewonnen (vgl. S.65).
Das Reaktionsvermögen von XIII war für einen vollständigen Umsatz von Chlorverbindung und Natriummalonester zu gering gewesen.

---

[32] K.N.Campbell, A.H.Sommers, Org.Syntheses, Coll.Vol.III, 446.

[33] F.L.M.Pattison, W.C.Howell, A.J.McNamara, J.C.Schneider, J.F.Walker, J. org. Chemistry 21, 739 (1956).

[34] R.Paul, Bull. Soc. chim. France [5], 1, 971 (1934).

Deshalb wurde die Chlorverbindung XIII in die analoge Jodverbindung XIV übergeführt. Diese Finckelstein-Reaktion gelang durch Umsetzung mit Natriumjodid in trockenem, siedenden Aceton[35,36] mit einer Ausbeute von etwa 7o % d.Th.

Die Kondensation des nicht aufgetrennten Alkylhalogenidgemisches (7o % XIV, 3o % XIII) mit Natriummalonester erfolgte nach der für Malonestersynthesen üblichen Weise.

Zur Aufarbeitung des Ansatzes wurde im sauren Milieu der Pyranylrest entfernt (vgl. vorige Seite), dann in Anlehnung an eine bekannte Arbeitsweise[37] mit Kalilauge verseift und nach anschliessender Überführung des Kaliumsalzes in die freie Säure diese in Gegenwart von Chlorwasserstoff durch trockenes Erhitzen decarboxyliert.
Da zu erwarten war, daß beim trockenen Erhitzen die ω-Hydroxycarbonsäure XIX Lactonringschluß einginge, wurde noch einmal mit Alkali und dann vorsichtig mit Mineralsäure behandelt.

Die so erhaltene verunreinigte 18-Hydroxy-stearinsäure (XIX) wurde nach ihrer Veresterung mit Diazomethan und Acylierung mit 4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-(4)-chlorid (XX, vgl. folgende Seite) in Form ihres 4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-Derivates XXIII rein dargestellt und analysiert.

Primär entsteht bei der Malonesterkondensation 2-(16'-Hydroxyhexadecyl)-malonsäure (XVII). Diese Dicarbonsäure ließ sich nach Behandlung mit Diazomethan und der durch Craig-Verteilung erreichten Reinigung des Dimethylesters XVIII durch die Analysen des Di-esters XVIII und seines 4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-Derivates XXIV identifizieren.

---

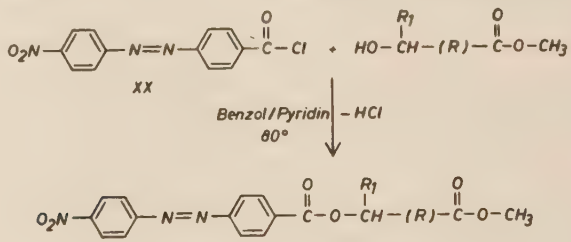
35 F.L.M.Pattison, W.C.Howell, J.org.Chemistry 21, 753 (1956).

36 Eugen Müller, Methoden der organischen Chemie (Houben-Weyl), 4.Aufl., G.Thieme Verlag, Stuttgart 196o, Bd.V/4, S.595.

37 E.E.Reid, J.R.Ruhoff, Org.Syntheses, Coll.Vol.II, S.474.

C. Darstellung der 4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-(4)-ester der Hydroxyfettsäureester

Zur Charakterisierung der Hydroxyfettsäureester wurden ihre Hydroxylgruppen mit 4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-(4)-chlorid (XX) verestert und die so erhaltenen 4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-(4)-ester näher untersucht:



p-Nitro-azobenzol-carbonsäurechlorid (XX) als ein Reagens auf Alkohole und Phenole wurde erstmals von E.Hecker beschrieben[38]. Die mit XX erhaltenen Ester zeigten gegenüber den zugrunde liegenden Alkoholen, bzw. Phenolen bessere Kristallisationseigenschaften und höhere, scharfe Schmelzpunkte. Ihre intensive rote Farbe erleichtert die Verfolgung von Trennoperationen; ihre hohe molare Extinktion bei 330 mμ kann zu Konzentrations- und Äquivalenz-Bestimmungen verwendet werden. Amin und Hecker untersuchten eingehend die Trennung von p-Nitro-azobenzol-carbonsäure-Derivaten der Alkohole, -im folgenden meist NABS-Derivate genannt,- durch Craig-Verteilung und Verteilungschromatographie[39]. Die freien Alkohole lassen sich aus den NABS-Derivaten durch alkalische Verseifung in Glykolmonomethyläther quantitativ zurückgewinnen[40].
Anreicherung und Reindarstellung des Bombykols waren mit Hilfe des Azocarbonsäurechlorids XX gelungen[2], und eine Mikromethode zur Konstitutionsaufklärung ungesättigter Alkohole und Säuren,

---

[38] E.Hecker, Chem. Ber. 88, 1666 (1955).

[39] E.S.Amin, E.Hecker, Chem. Ber. 89, 695 (1956).

[40] E.Hecker, Proc. X. Internat. Congr. Entomol. 2, 293 (1956/58); Angew. Chem. 68, 682 (1956).

die sich der NABS-Derivate bedient[41], ermöglichte die Konstitutionsaufklärung dieses Insektenlockstoffes[6]. Das Säurechlorid XX bewährte sich außerdem im Rahmen der Arbeiten anderer Autoren mehrfach[27,42-44].

Wie vorauszusehen war, erwiesen sich Hydroxyfettsäuren selbst als ungeeignet für die pyridinkatalysierte Umsetzung mit dem Säurechlorid XX, weil außer der Acylierung ihrer Hydroxylgruppe auch ein Angriff des Säurechlorids an der freien Carboxylgruppe stattfindet und gemischte Anhydride gebildet werden. Deshalb wurden statt der freien Hydroxyfettsäuren deren Methylester zur Derivatbildung herangezogen. Tabelle 1 gibt eine Zusammenstellung der dargestellten NABS-Derivate.

Hydroxyverbindung			zugehöriges NABS-Derivat		
Name und Bezifferung		Schmp.	Bez.	Schmp.korr.	Ausb.
2-Hydroxystearinsäuremethylester, I		62,5-64,5	XXI	83°	39%
12-Hydroxystearinsäuremethylester, II		58°	XXII	39°	88%
18-Hydroxystearinsäuremethylester, III		62,5°	XXIII	110,5-111°	*
2-(16'-Hydroxyhexadecyl)-malonsäure-dimethylester,	XVIII	65,5°	XXIV	89,5°	69%
16-Chlorhexadecanol-(1),	XI	50,5°	XXV	105°	**

Tab. 1. 4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-Derivate (NABS-Derivate) der Hydroxyfettsäuremethylester und des 16-Chlor-hexadecanol-(1). Bei * und ** wurden die Ausbeuten nicht bestimmt, da die Ausgangsverbindungen III und XI nicht rein vorgelegen hatten; betr. * vgl. S.17, betr. ** vgl. S.65.

Aus der Zusammenstellung ist ersichtlich, daß die NABS-Ester höher schmelzen als die ihnen zugrunde liegenden Hydroxyverbindungen. Sie zeigen auch ein gutes Kristallisationsvermögen.

In beiden Eigenschaften macht das Derivat XXII des 12-Hydroxystearinsäure-methylesters, das die Verzweigung in seiner Molekül-

41 A.Butenandt, D.Stamm, E.Hecker, Chem.Ber. 94, 1931 (1961).

42 A.Butenandt, Nguyen-Dang Tam, Hoppe-Seyler's Z.physiol.Chem. 308, 277 (1957).

43 F.Lynen u.Mitarb., Angew.Chem. 71, 657 (1959).

44 L.A.Witting, J.W.Porter, Biochem.Biophys.Res.Comm. 1, 341 (1959).

mitte enthält, eine Ausnahme. Es wurde anfänglich stets als rotes Öl erhalten und zeigte später nach eingetretener Kristallisation einen gegenüber dem Ausgangsester II um 19° erniedrigten Schmelzpunkt.

Aus der Zusammenstellung der Tabelle 1 ist ferner ersichtlich, daß die einzelnen NABS-Derivate in unterschiedlichen Ausbeuten erhalten wurden.
So wurde das Derivat des 12-Hydroxy-stearinsäure-methylesters in besonders hoher Ausbeute gewonnen (88 %).
Unter den gleichen Bedingungen wurde das Derivat XXI des 2-Hydroxy-stearinsäure-methylesters, der eine Carboxymethyl und die zu acylierende Hydroxylgruppe in 1,2-Stellung enhält, in nur 39-proz. Ausbeute gewonnen. Es wurde hauptsächlich nicht umgesetzter Hydroxyester I zurückerhalten. Außer XXI wurden auch noch andere rot gefärbte Substanzen isoliert, von denen eine als der NABS-Ester des Methanols identifiziert, eine zweite auf Grund ihres Infrarot-Spektrums als ein gemischtes Anhydrid erkannt wurde und die übrigen in zu geringer Menge vorlagen, um näher charakterisiert werden zu können.
Das Dicarbonsäure-Derivat XXIV wurde gegenüber dem Monocarbonsäure-Derivat XXII in einer um 19 % erniedrigten Ausbeute erhalten. Es war dabei im Vergleich zu XXII von mehr NABS-Ester des Methanols begleitet.

Um die günstigsten Reaktionsbedingungen für die Umsetzung mit p-Nitro-azobenzol-carbonsäurechlorid zu finden, wurden Lösungsmittel, Temperatur und Reaktionszeiten variiert.
In Tabelle 2 sind die bei der Darstellung des NABS-Derivates des 12-Hydroxy-stearinsäure-methylesters unter verschiedenen Bedingungen erzielten Ausbeuten angegeben. Aus der Zusammenstellung geht hervor, daß die Ausbeuten an NABS-Derivat, -immer in Gegenwart kleiner Mengen Pyridin,- in siedendem Benzol am höchsten waren (Versuche a und b). Höhere Temperaturen als 100° brachten durch Verseifung der Hydroxyester schlechtere Ausbeuten (e,f).
In siedendem Toluol wurde als rotgefärbte Hauptfraktion das NABS-Derivat des Methanols isoliert und kein NABS-Derivat XXII gefunden (f).

Versuchs-bezeichnung	Lösungs-mittel	Trocknung d. Lsgm. durch	Menge des Lsgm.	Reaktions-temperatur	Reaktions-zeit	Ausbeute
a	Benzol Pyridin	Na KOH	10 ml 0,1 ml	80°	2,5 Stdn.	88 %
b	Benzol Pyridin	— —	10 ml 0,16 ml	80°	3,5 Stdn.	71 %
c	Petroläther Pyridin	— KOH	20 ml 0,1 ml	45–50°	2,5 Stdn.	45%
d	Benzol Pyridin	Na KOH	10 ml 0,1 ml	20°	12 Stdn.	22%
e	Pyridin	CaH_2*	10 ml	115°	2 Stdn.	38 %
f	Toluol Pyridin	CaH_2* CaH_2*	10 ml 0,5 ml	110°	2 Stdn.	—

Tab. 2. Reaktionsbedingungen und Ausbeuten bei der Darstellung des NABS-Derivates (XXII) des 12-Hydroxy-stearinsäure-methylesters.
* techn. Calciumhydrid mit geringem Trocknungsvermögen.

Bei den Darstellungen der NABS-Derivate des 18-Hydroxy-stearinsäure-methylesters und des 2-(16'-Hydroxyhexadecyl)-malonsäure-dimethylesters (Derivate XXIII und XXIV) traten außer XXIII und XXIV und den oben mehrmals erwähnten Nebenprodukten je eine einheitlich scheinende rot gefärbte Substanz auf, die sich später als Gemisch erwies.

So wurde bei der Chromatographie des Monocarbonsäure-Derivates XXIII eine sehr geringe Verunreinigung durch das Dicarbonsäure-Derivat XXIV nicht rein abgetrennt. Das Hauptprodukt XXIII wurde zwar einheitlich eluiert, doch die dagegen kaum abgesetzte Bande von XXIV enthielt gleichfalls XXIII.
Dieses Gemisch wurde für eine einheitliche Substanz gehalten, weil sich durch Umkristallisieren der Schmelzpunkt nicht signifikant änderte und eine Elementaranalyse die geringe Beimengung nicht erkennen ließ.
Ein Vergleich der Eigenschaften des Gemisches mit den dazu unterschiedlichen Eigenschaften des reinen Stoffes XXIII wie Lage der Schmelzpunkte, Extinktionen im UV, amorphe, bzw. Kristall-Form und der Vergleich der fast identischen IR-Spektren gab zu der Vermutung Anlaß, es könne sich um die geometrischen cis/trans - Isomeren der N=N Doppelbindung handeln. Diese sind vom Azobenzol[45]

[45] G.S.Hartley, Nature (London) 140, 281 (1937).

und vielen substituierten Azobenzolen[46] bekannt.
Die Erfolglosigkeit von thermischen und photochemischen Isomerisierungs-Versuchen ließen daran Zweifel aufkommen.
Rechromatographien über sehr viel Kieselgel und Dünnschichtchromatogramme zeigten, daß tatsächlich ein Gemisch der Derivate XXIII und XXIV vorlag.

Ähnliche Verhältnisse wurden im umgekehrten Fall bei einer sehr geringen Verunreinigung des Dicarbonsäure-Derivates XXIV mit dem Monocarbonsäure-Derivat XXIII beobachtet.

Zur Reinigung der NABS-Ester diente eine Chromatographie über Kieselgel (S.36) oder eine 24-stufige Craig-Verteilung (S.33). Die Chromatographie über Kieselgel erwies sich außerdem als geignet zur Trennung der einzelnen NABS-Derivate voneinander.

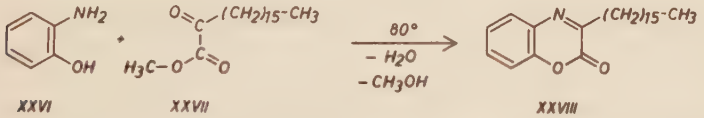
---

[46] F.G.Mann in "Progress in Stereochemistry", Butterworths Scientific Publications, London 1958, Bd.II, S.2o4.

D. 3-Hexadecan-(1,4)-benzoxazinon-(2) (XXVIII)

Die Klasse der Benzoxazinone ist von E.Biekert durch Kondensation von α-Ketoestern mit o-Aminophenolen leicht zugänglich gemacht worden[47]. Sie gewann pharmakologisches Interesse, als bei geringer Toxizität eine tuberkulostatische Wirksamkeit in vitro und im Tierversuch festgestellt wurde.

Aus o-Aminophenol (XXVI) und 2-Hydroxy-stearinsäure-methylester (I) ließ sich nach dessen Oxydation zum α-Ketoester XXVII das Benzoxazinon XXVIII gewinnen, das sich durch seine längere aliphatische Seitenkette in 3-Stellung von den bisher bekannten Verbindungen dieses Typs unterscheidet:



XXVI XXVII XXVIII

Angaben über die mit dem Benzoxazinon XXVIII in vitro erreichbare Wachstumshemmung von Mycobacterium tuberculosis var. hominis und var. bovis sind in der Tabelle 3 auf der folgenden Seite enthalten[48]. Die Stärke der Hemmung ist vergleichbar mit derjenigen, die auch andere, bereits bekannte Benzoxazinone aufweisen.

---

[47] E.Biekert, D.Hoffmann, F.J.Meyer, Chem. Ber. 94, 1664 und 1676 (1961).

[48] Ausführung der Teste freundlicherweise durch Herrn Dr.Lebeck, Dtsch. Forschungsanstalt für Tuberkulose, München.

	γ XXVIII pro ccm Nährboden	Wachstum
A. Kirchner-Herrmann Nährboden 30 + 10% inakt. Rinderserum [49]		
Mycobact. tub., Typ Humanus I:	10	-
	5	+
	2	++
	1	+++
	0	+++
Typ Humanus II:	10	-
	5	+++
	0	+++
Typ Bovinus :	10	-
	5	+
	2	++
	0	++
B. Tarshish-Nährboden [50]		
Typ Humanus I:	20	Einzel-Kolonien
und Humanus II:	10	Rasenbildung
	0	Rasenbildung
Typ Bovinus :	20	—
	10	Rasenbildung
	0	Rasenbildung

Tab. 3. Tuberkulostatische Wirksamkeit des Benzoxazinons XXVIII. Beimpfung: o,5 mg Bakterienmasse / ml; davon wurde 1 Öse (4mm lichte Weite) zur Beimpfung des mit dem Benzoxazinon versetzten Nährbodens verwandt. Kein Wachstum: - , Wachstum verschiedener Stärke: + , ++ , +++ .

49 O.Kirchner, Zentralb.Bakt. I.Abt. Orig. 124, 403 (1932); W.Herrmann, Z.Hyg. 129, 103 u. 146 (1949).

50 M.S.Tarshish, W.A.Weed, P.C.Kinsella, M.V.Parker, W.B.Dunham, Amer.J.of Public Health 45, 1157 (1955).

E. Trennverfahren

1. C r a i g - V e r t e i l u n g

Die Reinigung von höheren Hydroxyfettsäuren nach klassischen Methoden ist verlustreich und führt nicht immer zur absoluten Reinheit. Die neueren chromatographischen Arbeitsweisen[51] sind wegen der geringen Durchsatzmenge der Säulen für präparative Zwecke ungeeignet.
Eine wesentlich größere Kapazität haben die mit zwei Flüssigkeitsphasen arbeitenden Verteilungsverfahren[52]. Sie haben außerdem den Vorteil, daß nach der Trennung die Komponenten ohne schwer entfernbare Verunreinigungen isoliert werden können, die bei verschiedenen chromatographischen Methoden durch miteluierte Imprägnierungsmittel (Paraffin- oder Ricinusöl, Silane) hervorgerufen werden. Ferner ist es bei Kenntnis der Verteilungskonstanten möglich, die Zahl der erforderlichen Trennschritte im Voraus zu berechnen und nach der Trennung die Reinheit der erhaltenen Fraktionen durch Vergleich der experimentell ermittelten mit der berechenbaren theoretischen Kurve zu überprüfen. Von den verschiedenen Verteilungsverfahren ist besonders die Craig-Verteilung (Grundprozeß) bezüglich der Natur des zu trennenden Gemisches und der Wahl der zwei Lösungsmittelphasen an wenig Voraussetzungen geknüpft. Sie ist in der Apparatur nach E.Hecker einfach durchzuführen[53].

---

51 R.T.Holman in "Progress of the Chemistry of Fats and other Lipids", Pergamon Press, London und New York 1952, Bd.I, S.1o4.

52 E.Hecker, Verteilungsverfahren im Laboratorium, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße 1955.

53 E.Hecker, Chemie-Ing.-Techn. 25, 5o5 (1953).

a. Methylester der Hydroxyfettsäuren

Craig-Verteilungen zur Trennung verschiedener Monohydroxyfettsäuremethylester sind in den Lösungsmittelsystemen Pentan-Hexan/ Äthanol 8o-proz.[54] und Hexan / Äthanol 85-proz.[55] bereits durchgeführt worden. Zur Abtrennung von Autoxydationsprodukten aus höheren Fettsäuremethylestern bewährte sich das Phasenpaar Skellysolve F [56]/ Äthanol 87-proz.[57].
Diese Systeme wurden zur Reinigung der hier dargestellten Fettsäureester geringfügig variiert.
Es konnte angenommen werden, daß sich die reinen, bzw. standardisierten Kohlenwasserstoffe durch Petroläther ersetzen ließen, weil allein die Reindarstellung und nicht die Charakterisierung durch Verteilungskonstanten beabsichtigt war. Dabei kam ein niedrig siedender Petroläther nicht in Betracht, da bei der Verteilungsapparatur nach E.Hecker mit ihren nicht vollständig geschlossenen Elementen Verluste an leicht flüchtigen Lösungsmitteln auftreten.
Eine Erhöhung des Wassergehaltes der alkoholischen Unterphase mußte eine höhere Verteilungskonstante K des zu verteilenden Hydroxyesters und eine verminderte Kapazität des Lösungsmittels zur Folge haben. Von einer Erhöhung des Alkoholgehaltes in der Unterphase war die gegenteilige Wirkung zu erwarten. In Vorversuchen wurde beobachtet, daß bei Verwendung einer Unterphase mit ü b e r 83-volumenproz. Alkohol die zu verteilenden Hydroxyfettsäureester als Lösungsvermittler für die beiden Phasen wirkten, denn es traten je nach den Konzentrationsverhältnissen merkliche Verschiebungen des Volumenverhältnisses der Phasen bis zu ihrer vollständigen Mischung auf.

---

54 K.T.Zilch, H.J.Dutton, Analytic.Chem. 23, 775 (1951).

55 D.H.S.Horn, F.W.Hougen, E.v.Rudloff, D.A.Sutton, J.chem.Soc. (London) 1954, 177.

56 Petroläther vom Sdp.3o-6o° der Skelly Oil Comp., Kansas City.

57 O.S.Privett, W.O.Lundberg, C.Nickell, J.Amer.Oil Chem.Soc. 3o, 17 (1953), zit. C.A. 47, 1949i (1953).

Diese Überlegungen führten zur Verwendung der Phasenpaare Petroläther 6o-7o° / Äthanol 83-proz. und Petroläther 6o-7o° / Äthanol 74-proz. Die Abbildungen 3 und 4 der folgenden Seite zeigen die mit dem ersten der beiden Systeme bei n Verteilungsschritten, dem Volumenverhältnis Oberphase/Unterphase V = 1 und der Temperatur T erhaltenen Verteilungskurven des 2-Hydroxy- und des 12-Hydroxy-stearinsäure-methylesters; in der Tabelle 4 (S.29) sind die daraus ermittelten Verteilungskonstanten K [58] zusammen mit einer vergleichbaren Angabe aus der Literatur aufgeführt.

In den Diagrammen sind die in den einzelnen Fraktionen durch Auswägen gefundenen Mengen an verteilter Substanz gegen ihre Fraktionsnummer aufgetragen; man erhält so die experimentelle Kurve. Die mit Hilfe der Verteilungszahl G und der Rekursionsformel[59] berechneten theoretischen Kurven, die gleichfalls eingezeichnet sind, geben den Idealfall der störungsfreien Verteilung einer analysenreinen Substanz wieder. Die Übereinstimmung zwischen experimenteller und berechneter Kurve beweist die Einheitlichkeit der verteilten Substanz.

Aus der Tabelle 4, Teil a ersieht man, daß die Hydroxystearinsäureester in den Systemen Petroläther / wässriges Äthanol Verteilungskoeffizienten um 1 zeigen. Die Ester können deshalb in wenigen Verteilungsschritten sowohl von polareren als auch von weniger polaren Nebenprodukten abgetrennt werden, was man auch leicht aus den Verteilungskurven ersieht. Das Malonsäurederivat XVIII, das seiner beiden Carbonester-Gruppen wegen in der polaren Unterphase besser löslich ist als die Monocarbonsäureester I und II, weist einen bedeutend niedrigeren Verteilungskoeffizienten auf ($\overline{K} = 0{,}22$).

---

[58] Verteilungskoeffizient K und Verteilungszahl G sind durch die Gleichung K = G / V miteinander verknüpft. Da in dieser Arbeit stets V = 1, sind hier die Werte für G und K identisch. K wird als eine Stoffkonstante gebraucht, G als eine Maßzahl für die Lage des Maximums in einer Verteilungskurve. Zur Berechnung von G aus der Verteilungskurve s. loc.cit.[52] S.5o.

[59] loc.cit.[52] S.191.

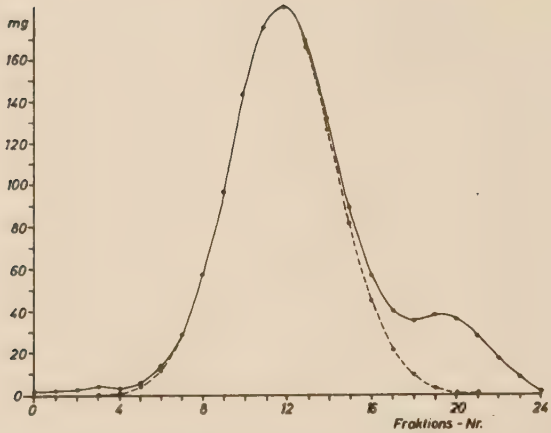


Abb. 3. 2-Hydroxy-stearinsäure-methylester (I), Grundprozeß der Craig-Verteilung im System Petroläther 6o-7o° / Äthanol 83-proz., n = 24, V = 1 (2o + 2o ml), T = 23°.
—— experimentell gewonnene Kurve
– – auf G = o,97 berechnete[58,59] Kurve

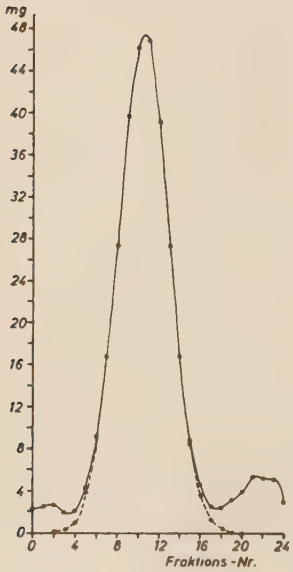


Abb. 4.
12-Hydroxy-stearinsäure-methylester (II), Grundprozeß der Craig-Verteilung im System Petroläther 6o-7o° / Äthanol 83-proz., n = 24, V = 1 (1o + 1o ml), T = 22°.
—— experimentell gewonnene Kurve
– – auf G = o,78 berechnete Kurve

Verbindung	Lösungsmittelsystem Oberphase	Unterphase	K	n	T	Abb.
a. Methylester der						
2-Hydroxystearinsäure, I	Petroläther 60-70°	Äthanol 83-proz.	0,97	24	23°	3
12-Hydroxystearinsäure, II	"	" 74- "	1,08	24	21°	—
54) "	Pentan-Hexan (35-60°)	" 80 "	0,99	24	*	—
"	Petroläther 60-70°	" 83 "	0,78	24	22°	4
2-(16'-Hydroxyhexadecyl)-malonsäure, XVIII	"	" 83 "	0,22	24	20°	—
b. freie Säuren						
60) Stearinsäure IV	n-Heptan(4)	Acetonitril (1) Methanol (1) Eisessig (1)	3,14	>24	*	—
"	"	"	3,31	24	22°	6
12-Hydroxystearinsäure, VIII	"	"	0,14	24	22°	6
Ricinolsäure, VII	"	"	0,1	24	22°	5
2-(16'-Hydroxyhexadecyl)-malonsäure, XVII	"	"	<0,1	1	21°	—
12-Hydroxystearinsäure, VIII	n-Heptan(5)	Acetonitril (1) Methanol (1) Eisessig (2) Wasser (1,4)	0,75	24	22°	7

Tab. 4. Verteilungskoeffizienten K von Methylestern und freien Hydroxyfettsäuren, ermittelt nach n Verteilungsschritten bei der Temperatur T.

* Arbeitstemperatur von den zit.Autoren nicht angegeben.

b. Freie Säuren

Lösungsmittelsysteme, wie sie oben im Zusammenhang mit den Estern zitiert wurden, ergeben auch bei der Verteilung der freien Säuren Konzentrationsmaxima in der Mitte der Verteilungsbatterie[54,61]. Die so erhaltenen experimentellen Verteilungskurven weichen jedoch in ihrer Form von den berechneten Kurven ab. Die Abweichungen kommen durch konzentrationsabhängige Dissoziation und Asso-

[10] E.H.Ahrens, L.C.Craig, J.biol.Chem. 195, 299 (1952).

[61] L.S.Davies, W.G.H.Edwards, J.Sci.Food Agr. 2, 431 (1951), zit. C.A. 46, 2817d (1952).

ziation der Säuren und dadurch veränderte Löslichkeiten und Verteilungskoeffizienten zustande. Die Störungen können durch geeignete Zusätze unterdrückt werden. Die Zusätze müssen die Dissoziation der Säure in der polaren Lösungsmittelphase zurückdrängen und die Säuremolekeln in der unpolaren Phase aus ihren Assoziationen verdrängen. So verwendeten Ahrens und Craig zur Trennung gesättigter und ungesättigter Fettsäuren das System n-Heptan - Acetonitril - Methanol - Eisessig (4 : 1 : 1 : 1) [60].
Bei der Übertragung dieses Systems auf die Trennung der hydroxylhaltigen Fettsäuren wurden die in Tabelle 4, Teil b aufgeführten Verteilungskoeefizienten gefunden (S.29). Man erkennt, daß in dem System nach Ahrens und Craig die Verteilungskoeffizienten umso kleiner sind, je mehr polare Gruppen im Molekül vorhanden sind.

Bei der Verteilung der Ricinolsäure (VII) und der 12-Hydroxy-stearinsäure (VIII) (Abbildungen 5 und 6) ließen sich Stearinsäure und eine etwas weniger weit wandernde unbekannte Komponente abtrennen.

Aus der Abbildung 6 ist ersichtlich, daß sich die 12-Hydroxy-stearinsäure in den ersten Fraktionen der Verteilungsbatterie befand (G = o,14). Da sich die theoretische Kurve in solchen Fällen nur ungenau berechnen läßt, war eine Aussage über den Reinheitsgrad dieser Fraktionen nicht möglich. Es wurde deshalb durch Abwandlung des Lösungsmittelsystems versucht, das Maximum in die Mitte der Verteilungskurve zu verschieben (G = 1).
Ausschüttelungsversuche ergaben, daß Zusätze von Wasser oder Eisessig durch die Herabsetzung der Löslichkeit der Säure VIII in der Unterphase den Verteilungskoeffizienten für VIII erhöhten. o,5 Teile Wasser hatten die gleiche Wirkung wie 1,5 Teile Eisessig. Mit mehr als 1,5 Teilen Wasser war eine Trennung der Phasen durch Emulsionsbildung erschwert. Mit dem System n-Heptan - Acetonitril - Methanol - Eisessig - Wasser (5 : 1 : 1 : 2 : 1,4) gelang es, das Maximum von VIII in die mittleren Fraktionen zu verschieben (G = o,75). Dieses System eignet sich wegen seiner geringen Kapazität (s. Ordinate der Abb.7) nur für analytische Zwecke.

Zur Reindarstellung einer größeren Menge 12-Hydroxy-stearinsäure wurde deshalb auf das System n-Heptan - Acetonitril - Methanol -

Eisessig (4 : 1 : 1 : 1) zurückgegriffen und das Verfahren der einphasigen Entnahme[62] angewandt. Dabei wandert über eine gegebene Anzahl von Unterphasen eine beliebige Anzahl von Oberphasen hinweg, die nacheinander aus dem letzten Element der Apparatur austreten; vgl. S.51.

Der sehr niedrige Verteilungskoeffizient der Dicarbonsäure XVII, $K \leqq 0{,}1$ (s. Tab.4, Teil b), ließ eine Abtrennung von Verunreinigungen mit noch geringerer Wanderungsgeschwindigkeit durch wenige Verteilungsschritte, z.B. n = 24, nicht zu. Die Umwandlung der Säure XVII in ihren Dimethylester XVIII gestattete eine Craig-Verteilung (Grundprozeß) auf dieser Stufe im System Petroläther 60-70° / Äthanol 83-proz. bei einem K-Wert von 0,22 (s.Tab.4, Teil a).

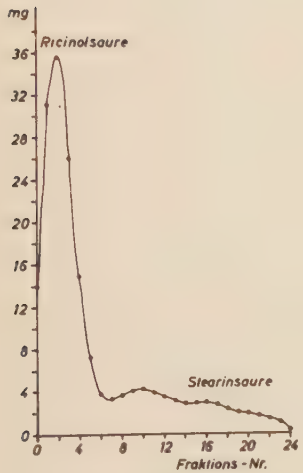


Abb. 5. Ricinolsäure (VII), Grundprozeß der Craig-Verteilung im System n-Heptan - Acetonitril - Methanol - Eisessig (4 : 1 : 1 : 1), n = 24, V = 1 (3 + 3 ml), T = 22°.

[62] loc. cit. [52] S.84, 88 und 90.

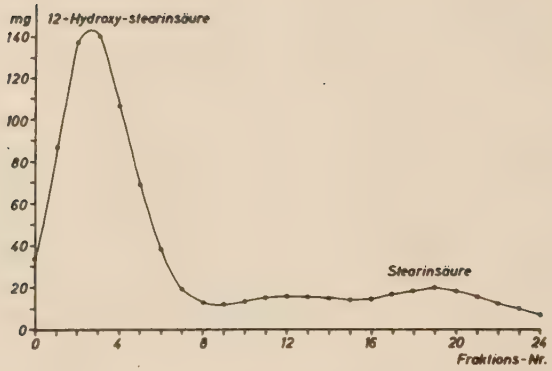


Abb. 6. 12-Hydroxy-stearinsäure (VIII), erste Craig-Verteilung (Grundprozeß). Lsgm.: n-Heptan - Acetonitril - Methanol - Eisessig (4 : 1 : 1 : 1), n = 24, V = 1 (1o + 1o ml), T = 22°.

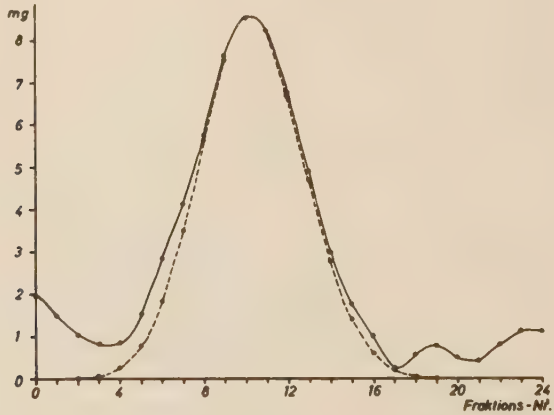


Abb. 7. 12-Hydroxy-stearinsäure (VIII), zweite Craig-Verteilung (Grundprozeß); Lsgm.: n-Heptan - Acetonitril - Methanol - Eisessig - Wasser (5 : 1 : 1 : 2 : 1,4), n = 24, V = 1 (1o + 1o ml), T = 22°.

——— experimentell erhaltene Kurve

– – – auf G = o,75 berechnete Kurve

c. 4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-(4)-Derivate

Die bei der Acylierung von Hydroxyfettsäureestern mit 4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-chlorid (XX) entstehenden 4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-Derivate, kurz NABS-Derivate genannt, lassen sich von nicht umgesetzten Hydroxyestern durch Craig-Verteilung ab - trennen.
Tabelle 5 gibt als Beispiel die Verteilungskoeffizienten des 12-Hydroxy-stearinsäure-methylesters (II) und seines NABS-Derivates (XXII) in zwei Lösungsmittelsystemen an.

	Lösungsmittelsystem		II	XXII			
	Oberphase	Unterphase	K	K	n	T	Abb.
a	Petroläther 60-70°	Äthanol 74-proz.	1,08	8,9	24	21°	8
b	Petroläther 60-70°	Äthanol 83-proz.	0,78	6,8	24	22°	—

Tab. 5. Verteilungskoeffizienten K des 12-Hydroxy-stearinsäure-methylesters (II) und seines NABS-Derivates (XXII) bei n Verteilungsschritten und der Temperatur T in zwei verschiedenen Lösungsmittelsystemen Petroläther / wässriges Äthanol (System a und b).

Die Unterschiede der Verteilungskoeffizienten von II (K = 1,08, bzw. 0,78) und XXII (K = 8,9, bzw. 6,8) zeigen, daß ihre Trennung in wenigen Verteilungsschritten möglich ist. Nach n = 24 liegt das Maximum von II in der Mitte der Verteilungskurve, das von XXII an ihrem Ende (Abb.8).

Wird absol.Methanol als Unterphase gewählt, liegt der Verteilungskoeffizient für das NABS-Derivat XXII bei 1,17 und das Konzentrationsmaximum in der Mitte der Verteilungskurve (Abb.9). Ähnliches gilt für die Verteilung des NABS-Derivates (XXIV) des 2-(16'-Hydroxyhexadecyl)-malonsäure-dimethylesters (XVIII) im gleichen System (Abb.10, S.37). Hier läßt sich aus der Übereinstimmung von experimenteller und berechneter Kurve die Einheitlichkeit der Substanz entnehmen.

Die Ausbeute bei der Darstellung eines NABS-Esters kann aus der Fläche unter der Kurve des reinen Azoesters ermittelt werden.

Es wurde geprüft, ob eine Trennung der einzelnen NABS-Derivate der Hydroxyfettsäuremethylester untereinander durch Craig-Verteilung möglich ist. Dazu würde sich das Lösungsmittelsystem am besten eignen, das Verteilungskoeffizienten um den Wert 1 ergibt, Denn es wirken sich im mittleren Bereich der Verteilungskurve schon geringe Unterschiede der Verteilungskoeffizienten in einer augenfälligen Verschiebung der Maxima aus, hier lassen sich auch die als Hilfsmittel wichtigen theoretischen Kurven genau berechnen.
Das System Petroläther 90-100°/ absol. Methanol, das im Gegensatz zum System Petroläther / hochproz. Äthanol bei Zimmertemperatur eine Mischungslücke aufweist, ergibt für die NABS-Derivate Verteilungskoeffizienten um 1, wie Tabelle 6 zeigt.

NABS - Derivat des	K	n	T	Abb.
2-Hydroxystearinsäuremethylesters, XXI	1,59	24	22°	—
12-Hydroxystearinsäuremethylesters, XXII	1,17	24	22°	9
18-Hydroxystearinsäuremethylesters, XXIII	1,43	12	20°	—
2-(16'-Hydroxyhexadecyl)-malonsäure-dimethylesters, XXIV	0,66	24	20°	10

Tab. 6. Verteilungskoeffizienten K der NABS-Derivate XXI, XXII, XXIII und XXIV bei n Verteilungsschritten und der Temperatur T in Petroläther 90-100° / absol.Methanol.

Ein Vergleich der Verteilungskoeffizienten dieser Tabelle zeigt, daß ihre Werte so nahe beieinander liegen, daß für quantitative Trennungen mit diesem System sehr viele Verteilungsschritte, etwa 500 - 2 000 , nötig wären[63].
Die Trennung kann weniger aufwendig durch Adsorptionschromatographie an Kieselgel erreicht werden.

[63] loc. cit. [52] S.78 und Tabellen-Anhang S.3.

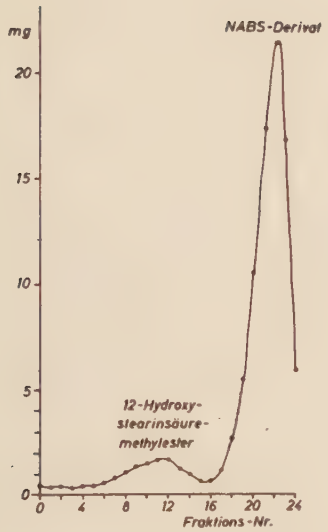


Abb. 8.
12-Hydroxy-stearinsäure-methyl-ester (II) und sein NABS-Derivat (XXII), Grundprozeß der Craig - Verteilung im System Petroläther 6o-7o°/ Äthanol 74-proz., n = 24, V = 1 (3 + 3 ml), T = 21°.

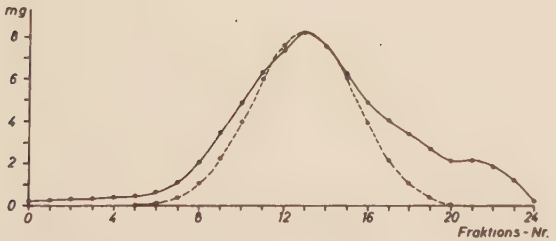


Abb. 9. NABS-Derivat (XXII) des 12-Hydroxy-stearinsäure-methyl-esters (II), Grundprozeß der Craig-Verteilung im System Petroläther 9o-1oo°/ absol. Methanol, n = 24, V = 1 (3 + 3 ml), T=22°.
——— experimentell gewonnene Kurve
– – – auf G = 1,17 berechnete Kurve

2. Adsorptionschromatographie

Als Trennmethode, die die Reinigung der NABS-Derivate vom Ausgangsmaterial und Nebenprodukten und die Trennung der NABS-Derivate untereinander erlaubt, erwies sich die Adsorptionschromatographie an Kieselgel.

Die verteilungschromatographische Trennung der NABS-Ester von Alkoholen an imprägnierter Kieselgur[39,5] weist gegenüber der Adsorptionschromatographie an nicht imprägniertem Silicagel[64,5] als Nachteil den Übergang von Paraffinöl ins Eluat auf. Bei einer Chromatographie über saurem Aluminiumoxyd wurden keine scharfen Banden erhalten.

Die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen NABS-Derivate wurden durch Adsorptionschromatographie an einem durch Vorbehandlung besonders gleichmäßigen Kieselgel rein erhalten. Als Lösungsmittel wurden Petroläther-Benzol-Gemische eingesetzt. Zum Auftragen auf die Säule konnten die Substanzen nicht vollständig gelöst werden; das dazu erforderliche polare Lösungsmittelgemisch bewirkt bei der anschließenden Chromatographie eine unvollständige Trennung zwischen dem Hydroxyfettsäure-NABS-Derivat und dem begleitenden NABS-Ester des Methanols. Wurden die Azoester heiß gelöst und nach Erkalten als Aufschlämmung auf die Säule gegeben, lösten sie sich mit steigender Polarität des Lösungsmittels und wurden als scharfe Banden eluiert.

So erwies sich z.B. bei der Chromatographie des Reaktionsproduktes der Umsetzung von 2-(16'-Hydroxyhexadecyl)-malonsäure-dimethylester (XVIII) mit NABS-chorid (XX) die 5. aus der Säule austretende rote Bande als das gewünschte NABS-Derivat XXIV. Die Verteilungskurve dieses Präparats vom Schmp. 87-88° ist in Abbildung 1o (S.37) wiedergegeben. Die mit eingezeichnete berechnete Kurve gibt mit ihrer Fläche den Gehalt an reinem Stoff XXIV an. Der Schmp. der Fraktionen 8-1o betrug 88°, der der 11.Fraktion 89,5°; nach mehrmaligem Umkristallisieren schmolzen die Fraktionen bei 89,5°.

---

64 A.Butenandt, R.Beckmann, unveröffentlicht.

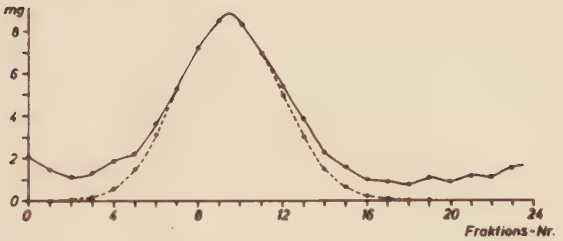


Abb. 10. NABS-Derivat (XXIV) des 2-(16'-Hydroxyhexadecyl)-malonsäure-dimethylesters (XVIII), Grundprozeß der Craig-Verteilung im System Petroläther 90-100°/ absol. Methanol bei n = 24, V = 1 (50 + 50 ml), T = 20°.
——— experimentell gewonnene Kurve
– – – auf G = 0,66 berechnete Kurve

Die Grenzen der Leistungsfähigkeit dieser Chromatographie zeigten sich bei der Trennung der Derivate der stellungsisomeren Monohydroxystearinsäuren.

Analog seinem Verhalten auf der Dünnschichtplatte (s. Abb.12, S.39) läßt sich das in 2-Stellung substituierte Derivat XXI am leichtesten abtrennen. Es erwiesen sich nach einem ersten Trennversuch der drei Isomeren von den auf der Säule ineinander übergehenden drei Banden nur die Fraktionen des ersten Konzentrationsmaximums (Derivat XXI) im Dünnschichtchromatogramm als rein, aber keine der Fraktionen der folgenden Konzentrationsmaxima (XXII und XXIII). Die Abbildung 13 (S.39) zeigt ein Dünnschichtchromatogramm der Fraktionen Nr. 4 (XXI), 8 (XXII) und 12 (XXIII) der insgesamt 14 aufgefangenen gefärbten Fraktionen. Die Verunreinigungen von XXII und XXIII durch das jeweils vorauslaufende Derivat sind deutlich zu erkennen.

Zu einer quantitativen säulenchromatographischen Trennung des in 12- (XXII) und des in 18-Stellung (XXIII) substituierten Derivates wurde die 8 000-fache Menge an nicht desaktiviertem Kieselgel verwendet. In einem sehr wenig eluotropen Petroläther-

Benzol-Gemisch als Lösungsmittel ließ man die Azoderivate einen Weg von nur wenigen Millimetern pro Tag auf der Säule zurücklegen, bis nach zwei Wochen eine Auftrennung in zwei Banden erfolgt war und mit einem benzolreicheren Gemisch von der Säule eluiert werden konnte. Über die Reinheitskontrolle der so erhaltenen Fraktionen s. S.61.

3. Dünnschichtchromatographie

Zur Trennung und Charakterisierung kleiner Mengen NABS-Ester diente bisher die Papierchromatographie[41]. Ester niedriger Alkohole wurden auf acetyliertem Papier mit Pyridin / Dekan entwikkelt (System a); Ester von Alkoholen mit stärker lipophilem Charakter wurden getrennt auf Stearatkomplex-imprägniertem Papier, sog. Quilon-Papier, nach einer zweiten Imprägnierung mit Nonan und unter Verwendung von nonangesättigtem Nitromethan als Laufmittel (System b).

Das System b erfordert das Mitlaufen einer Bezugssubstanz auf den Durchlaufchromatogrammen und ist in der Durchführung kompliziert. Im System a zeigten die NABS-Derivate XXI, XXII und XXIII den gleichen R_F-Wert von 0,9.

Die Dünnschichtchromatographie nach E.Stahl zeigt sich besonders bei hydrophoben Substanzen der Papierchromatographie oft überlegen[65]. Zu Versuchen, nach dieser Methode NABS-Ester zu chromatographieren, wurden in Analogie zu der oben beschriebenen Adsorptionschromatographie über Kieselgel-Säulen mit Kieselgel beschichtete Platten gewählt. Die Abbildungen 11-13 geben einige der nach Entwicklung mit Benzol erhaltenen Chromatogramme wieder.
Abbildung 11 zeigt ein Chromatogramm der NABS-Ester von 16-Chlorhexadecanol-(1), Methanol, Äthanol und Butanol (XXV, XXIX, XXX und XXXI);
Abbildung 12 das gleiche für die NABS-Derivate des 2-Hydroxy-

[65] E.Stahl, Angew.Chem. 73, 646 (1961).

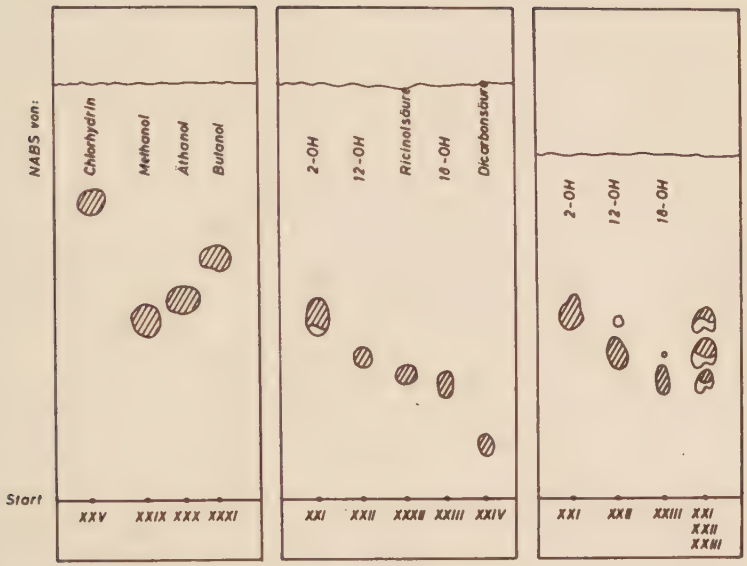


Abb. 11 Abb. 12 Abb. 13

Dünnschichtchromatogramme auf Kieselgel von 4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-Derivaten, entwickelt mit Benzol. In Abb.13 ist XXII verunreinigt mit XXI und XXIII mit XXII. Vollständige Namen der Derivate s. Text, S. 38.

und des 12-Hydroxy-stearinsäure-methylesters (XXI und XXII), des Ricinolsäuremethylesters (XXXII), des 18-Hydroxy-stearinsäure-methylesters (XXIII) und des 2-(16'-Hydroxyhexadecyl)-malonsäure-dimethylesters (XXIV).

In einem gemeinsamen Startpunkt aufgetragen, trennten sich die Azoderivate der stellungsisomeren Monohydroxystearinsäureester. Auch geringe Mengen an Verunreinigungen durch ein Isomeres sind sichtbar (Abb. 13).

Die R_F-Werte, die je nach Präparation der Dünnschichtplatte leichte Schwankungen aufweisen, sind im Experimentellen Teil bei den betreffenden Verbindungen angegeben.

Mit der Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel war ein vollwertiger und schnell arbeitender Ersatz für das papierchromatographische System auf mit Stearatkomplex imprägniertem Papier (System b) gefunden. Das Dünnschichtverfahren hat darüberhinaus den Vorteil, auch für die NABS-Derivate niederer Alkohole anwendbar zu sein, nämlich dann, wenn die nachzuweisenden Substanzen nicht das etwas höhere Trennvermögen des papierchromatographischen Systems a verlangen. Für das Verhältnis der R_F-Werte der NABS-Ester von Methanol und Äthanol (XXIX und XXX) gilt bei der Papierchromatographie im System a der Quotient 1 : 1,21, bei der Dünnschichtchromatographie im günstigsten beobachteten Fall 1 : 1,12 (Abb.11).

F. Infrarot-Spektren

Bei der Infrarot-Spektroskopie von Hydroxyfettsäuren interessiert besonders der Nachweis der Hydroxylgruppe.
Freie Hydroxycarbonsäuren ($HO-R-C\overset{O}{\underset{OH}{\swarrow}}$) verfügen über zwei verschiedene O-H Gruppierungen. Diese bedingen auf Grund der bei ihnen verschiedenen Bindungszustände zwischen dem Sauerstoffatom einerseits und dem Wasserstoffatom andererseits die Ausbildung z w e i e r, benachbarter O-H Valenzschwingungsbanden. Wegen dieser Störung läßt sich die Intensität und oft auch die Lage der auf die alkoholische Hydroxylgruppe zurückgehenden Bande nicht sicher bestimmen.
In Hydroxyfettsäure e s t e r n ($HO-R-C\overset{O}{\underset{OR'}{\swarrow}}$) wird die O-H Valenzschwingung allein durch die alkoholische Hydroxylgruppe verursacht. Die Infrarot-Spektroskopie der Methylester erwies sich deshalb günstiger als die der freien Säuren.

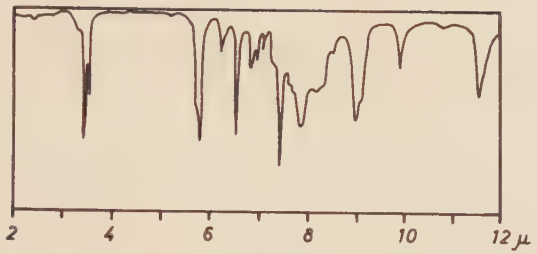
Die Banden der Valenzschwingungen der OH-Gruppe (ν_{O-H}) sind in Tabelle 7 (Teil a) auf S.42 zusammengestellt; sie enthält ausserdem die Werte für die Absorption der C=O Valenzschwingungen der Estergruppen ($\nu_{C=O}$).
Die Tabelle zeigt, daß in den Methylestern der Fettsäuren die C=O Bande des aliphatischen Esters etwa bei 5,75 μ liegt (Tab.7, Teil a). Im Gegensatz zu den Methylestern enthalten ihre NABS-Derivate zwei Esterfunktionen, außer der Fettsäure-methylester-Gruppe die Gruppierung des p-Nitro-azobenzol-carbonsäure-esters, dessen C=O Valenzschwingung bei 5,8 μ auftritt (Tab.7, Teil b). Daneben ist im Spektrum des NABS-Derivates XXI des 2-Hydroxy-stearinsäure-methylesters (I) die C=O Bande des aliphatischen Esters als deutliche Schulter bei 5,72 μ vorhanden. Bei dem NABS-Derivat des 12- und dem des 18-Hydroxy-esters (XXII und XXIII) fällt die Lage der C=O Valenzschwingung der aliphatischen Estergruppe mit der Bande des aromatischen Esters nahezu zusam-

Name [Aufnahmeart]		ν_{O-H} λ in μ (ν in cm^{-1})	$\nu_{C=O}$ λ in μ (ν in cm^{-1})
a) Methylester der isomeren Hydroxystearinsäuren [Kristallfilm]:			
2-Hydroxy-	I	2,88 (3472)	5,79 (1727)
12-Hydroxy- [66]	II	3,00 (3333)	5,74 (1742)
18-Hydroxy-	III	2,98 (3356)	5,74 (1742)
b) NABS-Derivate der Hydroxyester aus Teil a) [$CHCl_3$], Substitution in:			
2-Stellung	XXI		⟨5,72 (1748)⟩ 5,80 (1724)
12-Stellung	XXII		⟨5,78 (1730)⟩ 5,82 (1718)
18-Stellung	XXIII		— 5,81 (1721)

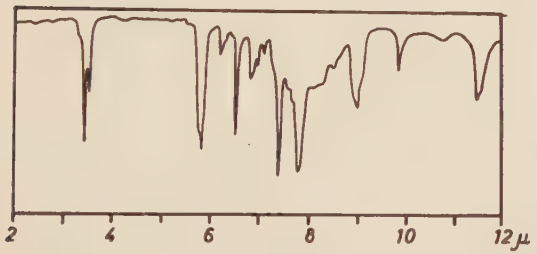
Tab. 7. Lage der Banden von O-H Valenzschwingungen (ν_{O-H}) und Estercarbonyl-Valenzschwingungen ($\nu_{C=O}$) beim 2-, 12- und 18-Hydroxy-stearinsäure-methylester (Teil a) und bei ihren NABS-Derivaten (Teil b). In Klammer ⟨⟩ gesetzte Werte bedeuten Ausbildung einer Bandenschulter an der betreffenden Stelle. Aufnahmeart: Hydroxyfettsäureester als Kristallfilme, NABS-Derivate gelöst in Chloroform.

men, so daß die C=O Valenzschwingung des aliphatischen Esters nur noch als schwache Schulter, bzw. als Bandenverbreiterung zu sehen ist (Abb.14, S.43).
Die C=O Valenzschwingung des aliphatischen Esters tritt beim Derivat XXI des 2-Hydroxy-esters I gegenüber dem Derivat XXII, bzw. XXIII, des 12-, bzw. 18-Hydroxy-esters, bei kürzerer Wellenlänge auf. Diese Blauverschiebung kann durch den negativen induktiven Effekt der α-ständigen nitrosubstituierten Azocarbonsäure-Gruppe gedeutet werden.

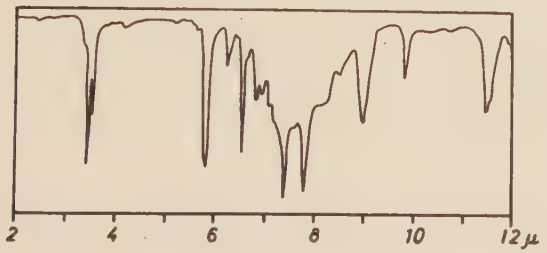
66 vgl. R.T.O'Connor, C.H.Mack, E.F.DuPré, W.G.Bickford, J.org.Chem. 18, 693 (1953) und H.Bayzer, E.Schauenstein, K.Winsauer, Mh.Chem. 89, 15 (1958).



XXI (2-substituiert)



XXII (12-substituiert)



XXIII (18-substituiert)

Abb. 14. Infrarot-Spektren der 4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-Derivate XXI, XXII und XXIII des 2-, 12- und 18-Hydroxy-stearinsäure-methylesters, gemessen in Chloroform.

G. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden die Möglichkeiten zur Trennung und Charakterisierung von Monohydroxyfettsäuren untersucht.

Dazu wurden die 2-, 12- und 18-Hydroxy-stearinsäure und deren Methylester dargestellt. Craig-Verteilungen in den Systemen n-Heptan - Acetonitril - Methanol - Eisessig (- Wasser) und Petroläther - wässr. Äthanol erlaubten die Reindarstellung der Fettsäuren und ihrer Ester in wenigen Verteilungsschritten.

Durch Acylierung mit 4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-(4)-chlorid wurden aus den Hydroxyfettsäuremethylestern die entsprechenden 4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-Derivate (NABS-Derivate) in Ausbeuten von 39 - 88 % erhalten. Die Derivate des 2- und des 18-Hydroxy-stearinsäure-methylesters weisen mit ihren hohen Schmelzpunkten und gutem Kristallisationsvermögen Eigenschaften auf, die von NABS-Derivaten erwartet werden.

Die Abtrennung der NABS-Ester vom Ausgangsmaterial und ihre Reinigung von Nebenprodukten läßt sich durch Chromatographie an Kieselgel oder durch Craig-Verteilung im System Petroläther - wässr. Äthanol, bzw. absol. Methanol erreichen. Von allen Verbindungen wurden in mehrstufigen Verteilungen die Verteilungskoeffizienten bestimmt.

Die Trennung der NABS-Derivate der 2-, 12- und 18-Hydroxy-stearinsäure-methylester untereinander gelingt durch Adsorptionschromatographie über sehr viel Kieselgel.

Nachweis und Charakterisierung der NABS-Derivate der Hydroxyfettsäureester ist durch Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel möglich. Sie erweist sich der bisher geübten Methode der Papierchromatographie von NABS-Derivaten stark lipophilen Cha-

rakters auf mit Stearatkomplex imprägniertem Papier als überlegen. Sie ermöglicht außerdem die Chromatographie auch von weniger stark lipophilen NABS-Derivaten, die bisher auf acetyliertem Papier getrennt wurden.

Am Beispiel des 18-Hydroxy-stearinsäure-methylesters wurde gezeigt, daß Hydroxyfettsäuren auch aus einem Substanzgemisch als NABS-Derivate abgetrennt und charakterisiert werden können.

H. Beschreibung der Versuche

Die Analysen wurden in den mikro-analytischen Laboratorien von A.Bernhard, Mülheim (Ruhr) und Dr.Ing.A.Schoeller, Kronach ausgeführt.

Die Infrarot-Spektren wurden mit dem Modell 21 von Perkin-Elmer aufgenommen, die Ultraviolett-Spektren mit dem Beckman Spectrophotometer DK 2.

Die Schmelzpunkte sind, wenn es nicht anders angegeben ist, unkorrigiert.

I. Darstellung der Hydroxyfettsäuren, ihrer Ester und des 3-Hexadecyl-(1,4)-benzoxazinon-(2)

1. 2-Hydroxy-stearinsäure-methylester (I) und 3-Hexadecyl-(1,4)-benzoxazinon-(2) (XXVIII)

2-Hydroxy-stearinsäure-methylester (I) wurde aus Stearinsäure (IV) vom Schmp.62° (Lit.-Angaben[67] zwischen 69° und 72,5°) nach Vorschrift von Mendel und Coops[19] gewonnen (vgl. Formelschema Abb.1, S.12).

Als einzige Abweichung gegenüber dieser Vorschrift wurde beim ersten Schritt der Reaktionsfolge, der Bromierung in α-Stellung, das aus der Reaktion entweichende Gasgemisch nicht in besonderen Waschflaschen aufgefangen und zur Wägung gebracht. Es wurde mit Hilfe eines schwachen Vakuums abgesaugt und die Umsatzrate erst nach der Acetylierung bestimmt. Dazu wurde das bei der Acetylierung freigewordene und in die Waschwässer übergegangene Bromid mit n/1o $AgNO_3$ und n/1o NH_4SCN nach Volhard titriert[68], ber. 16,92 g, gef. 16,69 g Br'. Daraus ergibt sich für die Stufen von Bromierung und Acetylierung zusammen ein Umsatz von 98,6 % d.Th., ausschließliche Monosubstitution vorausgesetzt.

Schmp. des rohen 2-Brom-stearinsäure-methylesters (V): 3o°,
der des rohen 2-Acetoxy-stearinsäure-methylesters (VI): 98°(unsch.)
und des rohen 2-Hydroxy-stearinsäure-methylesters (I): 55-56°,
nach Destillation i.V.($Sdp._{0,07}$ 165-168°) Schmp.62-64,5°.
Gesamtausbeute an I: 5o % d.Th.

Die weitere Reinigung erfolgte durch Craig-Verteilung von 1,37 g I in der Apparatur nach E.Hecker[53] im System Petroläther 6o-7o°/Äthanol 83-proz. über n = 24 Verteilungsschritte, bei einem Volumenverhältnis V = 1 (2o + 2o ml) und der Temperatur T = 23°.

---

67 Beilsteins Handb.d.org.Chem., 4.Aufl., Bd.II, S.377.

68 F.P.Treadwell, Analytische Chemie, 11.Aufl., Franz Deuticke, Wien 1941, Bd.II, S.616.

Die Inhalte der einzelnen Verteilungselemente wurden in tarierte Kölbchen überführt und im Vakuum-Eindampftopf nach Hecker und Karlson[69] zur Trockne gebracht. Nach den Fraktionsgewichten wurde die experimentelle Verteilungskurve gezeichnet (Abb.3, S.28). Sowohl die Fraktionsgewichte, wie auch die Lage des Maximums wurden zur Berechnung der Verteilungszahl G = o,97 (gemittelt) benutzt[58], mit deren Hilfe man die theoretische Verteilungskurve (gleichfalls Abb.3) nach der Rekursionsformel berechnet[59].

Schmp. 62,5-64,5° (Lit.-Schmp.[19]: 63-64,5°).

Das Infrarot-Spektrum zeigt die O-H Valenzschwingungsbande (λ_{OH} = 2,88 μ, ν = 3472/cm), eine der Carbonyl-Valenzschwingung zuzuordnende Bande ($\lambda_{C=O}$ = 5,79 μ, ν = 1727/cm) und keine Anzeichen für C=C Doppelbindungen.

$C_{19}H_{38}O_3$	(314,5)	ber:	C 72,56	H 12,18
		gef:	72,49	11,92

2-Keto-stearinsäure-methylester (XXVII) wurde aus dem 2-Hydroxycarbonsäureester I nach der Vorschrift von Bergström u.a. durch Oxydation mit Chromtrioxid erhalten[70].

Schmp. 54° (Lit. 54°).
Im IR-Spektrum fehlt die Bande der O-H Valenzschwingung; statt ihrer tritt eine aufgespaltene Bande der Carbonyl-Valenzschwingung bei 5,73 μ und 5,78 μ (1745 u. 173o/cm) auf.

3-Hexadecyl-(1,4)-benzoxazinon-(2) (XXVIII) wurde in Anlehnung an Arbeitsvorschriften von E.Biekert u.a. gewonnen[47].

a) 625 mg (2 mMol) Ketoester XXVII und 218 mg (2 mMol) o-Aminophenol wurden 15 Min. bei 8o° verschmolzen. Durch Extrahieren mit Äther wurde von nicht umgesetztem Aminophenol abgetrennt. Die ätherische Lösung wurde mit Tierkohle geschüttelt und gab nach Abdampfen des Lösungsmittels 676 mg (91 % d.Th.) des Benzoxazinons XXVIII.

69 E.Hecker, P.Karlson, Chemie-Ing.-Techn. 25, 397 (1953).

7o S.Bergström, G.Aulin-Erdtman, B.Rolander, E.Stenhagen, S.Östling, Acta chem.scand. 6, 1168 (1952).

b) 938 mg (3 mMol) Ketoester XXVII und 327 mg (3 mMol) Aminophenol wurden in 30 ml Äthanol gelöst und unter Stickstoff für 2o Min. am Rückfluß erhitzt. Nach Vertreiben des Äthanols unter Stickstoff wurde in Äther aufgenommen und wie oben gereinigt. Ausbeute: 923 mg XXVIII (83 % d.Th.).

Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus niedrig siedendem Petroläther betrug der Schmp. der feinen, schwach gelben Nadeln 69°. Das Benzoxazinon XXVIII löst sich bei Zimmertemperatur in Chloroform sehr gut, in Benzol zu mehr als 15 %, in Petroläther (60-70°) zu 3-4 %.

Das IR-Spektrum weist eine Bande bei 5,76 μ (1736/cm) auf, die auf die Lactonvalenzschwingung ($\nu_{C=O}$) zurückgeht, und zwei dem ortho-substituierten Benzol entsprechende Banden (δ_{C-H}) bei 13,07 u. 13,25 μ (765 u. 755/cm).

$C_{24}H_{37}O_2N$ (371,5)	ber:	C 77,58	H 10,04	N 3,77
	gef:	77,73	10,13	3,77

2. 12-Hydroxy-stearinsäure-methylester (II)

Ricinolsäure[71] (VII) ist ein bei Zimmertemperatur nicht kristallisierendes Öl, zur Charakterisierung dienen Jodzahl und Säurezahl. JZ ber: 85,1 [72], gef: 85,2 (Kaufmann[73]); SZ ber: 188,3,

---

71 Fa. Th.Schuchardt, München.

72 JZ = 17o,1o wird angegeben von K.S.Markley, Fatty Acids, Interscience Publ., New York 1947, S.41, was einem Verbrauch von 4 J pro Mol Ricinolsäure entsprechen würde. Vgl. aber B.M.Margosches, K.Fuchs, Ber.dtsch.chem.Ges. 6o, 991 (1927), die 85,1 berechnen, und den für Ricinolsäuremethylester (IX)$_{12}$ gefundenen Wert 71,7. Beim Ester kann die Hydroxylgruppe an C^{12} auf keinen Fall durch Lactonringbildung verschlossen sein. Damit ist gezeigt, daß die Hydroxylgruppe nicht mit dem Bromierungsreagens in Reaktion tritt und zur Berechnung der JZ der Verbrauch von 2 J pro Mol zugrunde gelegt werden muß.

73 H.P.Kaufmann, Analyse der Fette und Fettprodukte, Springer-Verlag, Berlin/Göttingen/Heidelberg 1958, Bd.I, S.571.

gef. 173,5 (DGF-Einheitsmethode[74]). Bei der Papierchromatographie im System Essigsäure 7o-proz./ Undecan[75,76] (aufgetragene Menge 2oγ, Nachweis durch Bildung des Kupfersalzes) zeigte die Säure einen R_F-Wert von o,78. Der Nachweis einer Verunreinigung, die in der Nähe des Startflecks verblieb, war unsicher.

Eine Craig-Verteilung (Grundprozeß) von 182 mg VII wurde in der Mikro-Apparatur n.Hecker[53] in n-Heptan - Acetonitril - Methanol - Eisessig (4:1:1:1) bei V = 1 (3 + 3 ml), T = 22° über 24 Verteilungsschritte durchgeführt (Abb.5, S.31). In den Fraktionen o - 6 der Verteilung fand sich Ricinolsäure (G = o,1), in den Fraktionen 7 - 24 Verunreinigungen (3o%). Die Verteilungskurve zeigt die Maxima dieser Verunreinigungen bei den Fraktionen 1o und 19. Die Fraktionen 15 - 18 resultieren aus der Überlagerung der auslaufenden Äste dieser beiden Maxima. Betr. des Maximums bei Frakt.19 (Stearinsäure) vgl. die Verteilung der 12-Hydroxystearinsäure (weiter unten und Abb.6, S.32).

IR-Spektrum: ν_{O-H} bei 2,95 μ (3390/cm), $\nu_{C=O}$ bei 5,84 μ (1712/cm).

Ricinolsäure-methylester (IX): 5,16 g Ricinolsäure (VII) wurden durch mehrstündiges Stehenlassen mit ätherischer Diazomethan-Lösung in den Ester IX übergeführt. Ausbeute: 4,85 g (9o % d.Th.). JZ ber: 81,2, gef: 71,1 (Kaufmann).

IR-Spektrum: ν_{O-H} bei 2,87 μ (3484/cm), $\nu_{C=O}$ bei 5,75 μ (1739/cm).

12-Hydroxy-stearinsäure (VIII): 1,o2 g (3,4 mMol) Ricinolsäure (VII) wurden in etwa 3o ml Eisessig an o,1 g Platinmohr[77] unter Normalbedingungen hydriert. Innerhalb von 9 Stdn. wurden 3,8 mMol (112 % d.Th.) Wasserstoff aufgenommen. Vom Katalysator

---

74 loc. cit. 73 S.527.

75 H.P.Kaufmann, W.H.Nitsch, Fette Seifen einschl.Anstrichmittel 56, 154 (1954) u. 58, 234 (1956).

76 standardisiertes Undecan der Fa. J.Haltermann, Hamburg 1.

77 R.Willstätter, E.Waldschmidt-Leitz, Ber.dtsch.chem.Ges. 54, 121 (1921).

wurde abfiltriert, die Lösung zur Trockne gebracht und der Rückstand 12 Stdn. im Vakuum über Kaliumhydroxid getrocknet. Ausbeute o,9o g (88 % d.Th.); Schmp.72°.

Eine erste Reinigung wurde erreicht durch Craig-Verteilung (Grundprozeß) von-o,88 g unter den bei der Ricinolsäure beschriebenen Bedingungen, jedoch in Elementen mit 1o ml Unterphase. Die Verteilungskurve (Abb.6, S.32) zeigt, daß 67 % der durchgesetzten Substanz aus der hydrierten Säure VIII (1.Gipfel) bestand, G = o,14. Schmp. der 3.Frakt.: 78,5°; im papierchromatographischen System Essigsäure 7o-proz./ Undecan R_F = o,73.
2. Gipfel (Frakt.12): olig, entfärbte schwach Brom und Kaliumpermanganat; wurde nicht weiter untersucht.
3. Gipfel (Frakt.19): Stearinsäure. Identifiziert durch die ausbleibende Entfärbung von Permanganat, den (gemittelten) Verteilungskoeffizienten K = 3,31 (Lit.[68]: K = 3,14), den Vergleich mit authentischer Stearinsäure im papierchromatographischen System Essigsäure 7o-proz./ Undecan und den Schmp.66° (Lit.-Schmp. n.[67]: zwischen 69° und 72,5°).

Eine Craig-Verteilung (einphasige Entnahme) von 6,12 g 12-Hydroxy-stearinsäure (VIII) wurde im System n-Heptan - Acetonitril - Methanol - Eisessig (4:1:1:1) bei n = 48, V = 1 (5o + 5o ml) und T = 22° in einer 22-stufigen Verteilungsbatterie vorgenommen. Die am Ende der Batterie austretenden Oberphasen wurden verworfen. Nach 48 Verteilungsschritten befand sich das Konzentrationsmaximum von VIII im Element Nr.6, statt wie bei der Verteilung mit n = 24 (Abb.6) in den Elementen Nr.2 und 3. Die Fraktionen vor dem Konzentrationsmaximum, die Elemente Nr.o und 1, enthielten nur die in der Oberphase praktisch nicht löslichen gelben Oxydationsprodukte von VII und VIII.

Zur Prüfung ihrer Einheitlichkeit wurden 7o mg VIII aus den Fraktionen o - 4 der ersten Verteilung (s.oben) einer zweiten Craig-Verteilung unter Bedingungen wie bei der ersten, jedoch im veränderten Lösungsmittel unterworfen: n-Heptan - Acetonitril - Methanol - Eisessig - Wasser (5:1:1:2:1,4). VIII zeigte hier die Verteilungszahl G = o,75, s.Verteilungskurve in Abb.7, S.32.

Nach Umkristallisieren aus Aceton Schmp. 82° (Frakt.1o), Lit.-Schmp.[78]: 82°).

IR-Spektrum: ν_{O-H} bei 3,12 µ (32o5/cm), $\nu_{C=O}$ bei 5,88 µ (17o1/cm).

$C_{18}H_{36}O_3$ (3oo,5)	ber:	C	71,95	H	12,o8
	gef:		72,23		12,o1

12-Hydroxy-stearinsäure-methylester (II):

a) aus Ricinolsäure-methylester (IX) durch katalytische Hydrierung an Platinmohr in Eisessig[22]. Schmp. des Rohproduktes: 44-58°; JZ ber: o, gef: 7,1 (Kaufmann).

b) 656 mg 12-Hydroxy-stearinsäure (VIII) in 5oo ml Äther wurden durch mehrstündiges Stehenlassen mit überschüssigem Diazomethan in den Methylester II übergeführt.
Ausbeute: 658 mg (96 % d.Th.); Schmp.55,5-56°.

Die Reinigung von 333 mg des unter b) erhaltenen Esters II erfolgfolgte durch Craig-Verteilung (Grundprozeß) im System Petroläther 6o-7o°/ Äthanol 83-proz. unter folgenden Bedingungen: n = 24, V = 1 (1o + 1o ml), T = 22°. Dabei G = o,78 (Abb.4, S.28). Eine Verteilung mit 74-proz.Alkohol als Unterphase ergab G = 1,o8.

Schmp. der Frakt.8, 1o u. 14 der in Abb.4 wiedergegebenen Verteilung: 57°; nach Umkristallisieren aus Petroläther (4o-6o°) Schmp. der Gipfelfraktionen: 58° (Lit.-Schmp.[22]: 57,5-58°).

IR-Spektrum: ν_{O-H} bei 3,oo µ (3333/cm), $\nu_{C=O}$ bei 5,74 µ (1742/cm).

$C_{19}H_{38}O_3$ (314,5)	ber:	C	72,56	H	12,18
	gef:		72,68		12,o9

[78] Progress in the Chemistry of Fats and other Lipids, Pergamon Press, London und New York 1955, Bd.III, S.22o.

3. 18-Hydroxy-stearinsäure-methylester (III)

16-Chlorhexadecanol-(1) (XI): 12,9 g Hexadecandiol-(1,16)[79] (X) vom Schmp.91-91,5° (Lit.-Schmp.[80]: 91,2-91,5°) wurden in 9 ml Petroläther (100-130°) und 120 ml 30-proz.Salzsäure 20 Stdn. lang auf einem Magnetrührer am Rückfluß erhitzt.
Danach wurde der Ansatz mit 60 ml Petroläther (100-130°) versetzt, wieder auf Siedetemperatur gebracht und in einem vorerhitzten Scheidetrichter schnell,aber vorsichtig (HCl!) ausgeschüttelt. Möglichst heiß wurden die Phasen getrennt. Aus der Petroläther-Phase fiel schnell nicht umgesetztes Diol X aus. Dieses wurde nach Dekantieren des Überstandes zusammen mit 12 ml Salzsäure und 9 ml Petroläther zur wässrigen Phase zurückgegeben, der Überstand später auf XI aufgearbeitet.

Die zwanzigstündige Reaktion von Diol X, Salzsäure und Petroläther mit anschließender Extraktion wurde sechsmal durchgeführt. Danach wurde der Ansatz zur Trockne gebracht, neu in 12 ml Salzsäure und 9 ml Petroläther aufgenommen und der oben beschriebene Arbeitsgang weitere dreimal durchgeführt.

Die vereinigten neun Petroläther-Extrakte wurden nach Abdampfen des Lösungsmittels in Äther aufgenommen und mit Wasser bis zur Chloridfreiheit gewaschen. Wieder zur Trockne gebracht, wurden sie durch Destillation i.V. fraktioniert ($Sdp._{0,13}$: 145-150°).

Ausbeute 9,7 g (70 % d.Th.); Schmp. unscharf 49-52°, nach Umkristallisieren aus Petroläther weiße Blättchen vom Schmp. 50,5°; Nachweis von Halogen durch die Probe n. Beilstein.

Das IR-Spektrum zeigt eine Aufspaltung der O-H Valenzschwin-

---

[79] Für die freundliche Überlassung von Hexadecandiol und interessante Anregungen danke ich vielmals Herrn W.Griesmeir/ Schwabmünchen.

[80] P.Chuit, J.Hausser, Helv.chim.Acta 12, 852 (1929).

gungsbande (3,01 u. 3,10 μ; 3322 u. 3226/cm)[81].

$C_{16}H_{33}OCl$	(276,9)	ber:	C	96,40	H	12,01	Cl 12,81
				96,58		11,62	13,11

2-(16'-Chlor-hexadecyl)-tetrahydropyranyl-äther (XIII): Mit Natriumsulfat getrocknetes Dihydropyran (XII) wurde frist destilliert (Sdp. 83,5-84,5°). 25 ml davon dienten zur Lösung von 8,3g Chlorhydrin XI. Die Lösung wurde unter Umschwenken mit 2 Tropfen Salzsäure versetzt, mehrere Stunden stehengelassen, mit Methylenchlorid verdünnt und mit wässriger Bikarbonatlösung von Säure, danach mit Wasser von Bikarbonat befreit. Aus der mit Natriumsulfat getrockneten Lösung wurde überschüssiges Dihydropyran am Rotationsverdampfer entfernt. Ein Teil des dabei zurückgebliebenen Öls wurde i.V. über Bikarbonat destilliert ($Sdp._{0,05-0,07}$: 172°); Schmp. 23-28°.

Im IR-Spektrum fehlten gegenüber dem Spektrum des Chlorhydrin XI die O-H Valenzschwingungsbanden bei 3,01 u. 3,10 u; statt dessen wurden im Bereich um 9 μ (1111/cm) drei breite, für Acetale charakteristische Banden registriert.

2-(16'-Jod-hexadecyl)-tetrahydropyranyl-äther (XIV): In die siedende Aufschwemmung von 9,00 g (60 mMol) getrocknetem Natriumjodid in 19 ml getrocknetem Aceton wurden innerhalb einer Stunde 7,22 g (20 mMol) 2-(16'-Chlor-hexadecyl)-tetrahydropyranyl-äther (XIII) eingetropft. Durch Nachspülen vermehrte sich die Acetonmenge auf 21 ml, nach 8 Stdn. Siedens am Rückfluß durch weitere Zugabe von Aceton auf 42 ml. Nach 22 Stdn. wurde erkalten gelassen, mit Wasser verdünnt und mit Äther ausgeschüttelt. Die abgetrennte wässrige Unterphase ließ sich am Rotationsverdampfer von Aceton befreien und danach ein zweites Mal mit Äther ausschütteln. Die vereinigten ätherischen Phasen wurden mit Wasser gewaschen, bis die Waschwässer farblos blieben, dann je einmal mit Bikarbonatlösung und Wasser. Nach Trocknen über

[81] Eine Aufspaltung der ν_{O-H} wurde bereits beim Diol X beobachtet (2,93 u. 2,98 μ ; 3413 u. 3356/cm).

Natriumsulfat, Filtrieren und Vertreiben des Äthers blieb ein Rückstand von 7,3o g.

Die wässrige Phase der ersten beiden Ausschüttelungen wurde mit den Waschwässern vereinigt, auf 25o ml aufgefüllt und darin in aliquoten Teilen das ionogen gebundene Gesamthalogenid (Cl'+J') bestimmt: Titrationen mit n/1o $AgNO_3$ und n/1o NH_4SCN nach Volhard[82] ergaben die Molzahl (57,7 mMol), gravimetrische Bestimmungen[83] die Gewichtsmenge fällbaren Silberhalogenids (12,3 g). Nach der Methode der indirekten Analyse[84] läßt sich daraus ermitteln, daß 13,6 mMol der 57,7 mMol als Chlorid vorlagen. Bezogen auf die in die Finckelstein-Reaktion eingesetzten 2o mMol Chlorverbindung XIII und unter Berücksichtigung des Verlustes von 2,3 mMol ionogen gebundenen Halogenids (6o mMol eingesetzt, 57,7 mMol wiedergefunden) bedeutet dies einen Halogenidaustausch in der Finckelstein-Reaktion von rund 7o % d.Th.

Das IR-Spektrum von XIV wies gegenüber dem Spektrum der Chlorverbindung XIII keine Veränderungen auf.

18-Hydroxy-stearinsäure-methylester (III): 372 mg (16,2 mMol) Natrium wurden unter Rühren in 5,2 g absol.Alkohol gelöst, 2,62g (16,2 mMol) frisch destillierter Malonsäure-diäthylester (XV) und 7,3 g (17,2 mMol) des vorstehend beschriebenen Gemisches aus 16'-Chlor- (3o%) und 16'-Jod-hexadecyl-2-tetrahydropyranyläther (7o%) hinzugegeben und am Rückfluß erhitzt. Nach 2 Stdn. erfolgte Zugabe weiterer 3 ml absol.Alkohols. Nach insgesamt 4,5 Stdn. war pH 8 erreicht.

Von dem erkalteten und nach Ansäuern zur Trockne gebrachten Primärprodukt der Malonesterkondensation wurden 36o mg (o,9 mMol, berechnet als 2-(16'-Hydroxy-hexadecyl)-malonsäure-diäthylester) mit 14o mg (2,5 mMol) Kaliumhydroxid in o,5 ml Wasser versetzt und in einem Ölbad von 11o-12o° am Rückflußkühler mit Natronkalkverschluß unter Rühren erhitzt.
Man ließ die nach 4 Stdn. noch alkalisch reagierende Lösung erkalten, verdünnte mit Wasser und brachte vorsichtig mit n/2 HCl auf pH 2,2.

82 In der Abwandlung von V.Rothmund u. A.Burgstaller, loc. cit. [68] S.615.

83 loc. cit. [68] S.272, 281.

84 F.W.Küster, A.Thiel, K.Fischbeck, Logarithmische Rechentafeln, Walter de Gruyter & Co, Berlin 1951, S.9o.

Es folgten eine Ausschüttelung mit 3o ml Äther und eine warm durchgeführte Extraktion mit 2o ml Benzol. Die erhaltenen organischen Phasen wurden vereinigt und aus ihnen mit Natriumsulfat das Wasser und durch Abdampfen Äther und Benzol entfernt.

Das so gewonnene Präparat (rohe 2-(16'-Hydroxyhexadecyl)-malonsäure, XVII) enthielt noch etwas Chlorwasserstoff. Es wurde in einem verschlossenen, mit je einem dünnen Gas-Einleitungs- und Ableitungsrohr versehenen Kolben trocken erhitzt. Nach 15 Min., als eine Ölbadtemperatur von 13o° erreicht war, entwickelte sich Kohlendioxid, das durch N_2 ausgetrieben und mit Barytwasser nachgewiesen werden konnte. Nach Aufhören der CO_2-Entwicklung wurde mit Chlorwasserstoffgas durchgespült und die Temperatur 2 Stdn. auf 13o-15o° gehalten, schließlich 1/2 Std. auf 18o° gesteigert. Danach wurde die Substanz zur Lactonringspaltung mit etwa 3oo mg (5 mMol) KOH und o,5 ml Wasser versetzt, am Rückfluß 2,5 Stdn. erhitzt und die Lösung nach Abkühlen mit n/2 HCl auf pH 2,2 gebracht. Die vorsichtig am Rotationsverdampfer zur Trockne gebrachte Säure XIX wurde durch mehrstündiges Stehenlassen mit ätherischer Diazomethan-Lösung in ihren Methylester (III) übergeführt. Ausbeute 232 mg (82% d.Th., bezogen auf das Primärprodukt der Malonesterkondensation).

Schmp. 47-52°; Umkristallisieren aus Petroläther und Methanol bis zum Schmp. 6o° (Lit.-Schmp.[8o]: 62,5°).

Das IR-Spektrum zeigte die Anwesenheit freier Hydroxylgruppen (2,98 μ; 3356/cm) und im Gegensatz zum Spektrum von XIII im Bereich von 9 μ keine Acetalbanden, ferner eine einheitliche Estercarbonyl-Valenzschwingungsbande (5,74 μ; 1742/cm).

Die Identität der Substanz mit 18-Hydroxy-stearinsäure-methylester (III) wurde gesichert durch die Analyse ihres 4'-Nitroazobenzol-carbonsäure-Derivates (XXIII):

$C_{32}H_{45}O_6N_3$ (567,7)	ber:	C 67,7o	H 7,99	N 7,4o	O 16,91
	gef:	67,6o	7,9o	7,41	17,o8

2-(16'-Hydroxyhexadecyl)-malonsäure-dimethylester (XVIII):
1,5 g XVII mit Schmp. 75-81° wurden durch mehrstündiges Stehenlassen mit ätherischer Diazomethan-Lösung in den Ester XVIII überführt. Ausbeute 1,44 g (89% d.Th.); Schmp. 33-35°.

1,44 g des Dicarbonsäure-diesters XVIII wurden bei n = 24, V = 1 (50 + 50 ml), T = 20° im System Petroläther 60-70° / 83-proz. Äthanol einer Craig-Verteilung (Grundprozeß) unterworfen. Das Konzentrationsmaximum von XVIII lag bei Frakt. 4; G = 0,22. Maxima von Verunreinigungen lagen bei den Fraktionen 12-13 und 23.

Schmp. 65° (Frakt.4); nach Umkristallisieren aus Petroläther Schmp. 65,5°.

Das IR-Spektrum zeigte die O-H Valenzschwingungsbande (2,99 µ; 3344/cm) und eine aufgespaltene Estercarbonyl-Valenzschwingungsbande (5,72 u. 5,77 µ; 1748 u. 1733/cm).

$C_{21}H_{40}O_5$ (372,5)	ber:	C	67,70	H	10,82
	gef:		67,89		10,49

II. Darstellung der 4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-(4)-Derivate

4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-(4)-chlorid (XX) wurde nach E.Hecker[38] aus 4-Nitranilin und rohem 4-Nitroso-benzoesäure-äthylester über den 4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-(4)-äthylester erhalten. Schmp. 162-163° (Lit.-Schmp. 162-163°).

4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-(4)-Derivate der Hydroxyfettsäure-methylester (abgekürzt als NABS-Derivate dieser Ester bezeichnet) wurden analog zu der hier für das NABS-Derivat XXI des 2-Hydroxy-stearinsäure-methylesters gegebenen Vorschrift dargestellt:

157,3 mg (o,5 mMol) 2-Hydroxy-stearinsäure-methylester (I) und 218,4 mg (o,75 mMol) 4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-chlorid (XX) wurden in 5o ml absol.Benzol gelöst. Durch Rühren und leichtes Erwärmen ließ sich das Lösen von XX beschleunigen. Eine Trübung trat bei der folgenden Zugabe von o,1 ml (1,25 mMol) über KOH getrocknetem Pyridin auf. Für 2 Stdn. wurde unter Rühren und $CaCl_2$-Verschluß am Rückfluß erhitzt und nach Erkalten von einem blaßroten Niederschlag abfiltriert. Das Filtrat wurde zur Entfernung des Pyridins mit 8 ml (1,3 mMol) n/3 H_2SO_4 geschüttelt, von der sauren Schicht getrennt und mit Wasser dreimal gewaschen. Die benzolische Lösung brauchte nicht getrocknet zu werden, wenn das Abdampfen schonend am Rotationsverdampfer vorgenommen wurde.

Eine genügende Entfernung des Pyridins ließ sich auch erreichen, wenn unter Verzicht auf eine saure Ausschüttelung gleich am Rotationsverdampfer zur Trockne gebracht und der Rückstand 12 Stdn. über konz.Schwefelsäure i.V. aufbewahrt wurde.

Die Reinigung des Reaktionsproduktes erfolgte durch Chromatographie über Kieselgel (s.S.59).

Ausbeute an XXI: 39 % d.Th. Schmp. und andere Daten werden im Abschnitt VI (S.62) zusammen mit denen anderer NABS-Derivate angegeben.

III. Reinigung der NABS-Derivate durch Adsorptionschromatographie

Die Chromatographie der NABS-Derivate erfolgte über der 80-100-fachen Menge Kieselgel Em, DIN 60/80 B "Herrmann"[85], vorbehandelt nach Brockmann und Gröne[86], neutral, desaktiviert mit 5 % Methanol. Zur Chromatographie von schwieriger zu trennenden Reaktionsprodukten, z.B. bei der Darstellung von XXI, und bei Rechromatographien, z.B. den auf S.22 erwähnten Trennungen, wurde abweichend hiervon die 600-1000-fache Menge an nicht desaktiviertem Kieselgel benutzt.

Es ließ sich auch "Kieselgel, fein gepulvert, für Verteilungschromatographie" der Fa. Merck, desaktiviert wie oben, verwenden. Hier ist die Durchlaufgeschwindigkeit geringer.

Das Kieselgel wurde in Petroläther 60-70°/ Benzol (97:3) aufgeschlämmt und an der Wasserstrahlpumpe entgast. Die damit gefüllte Säule von 1 cm Durchmesser wurde über Nacht mit dem Lösungsmittelgemisch durchspült. Alle Lösungsmittel waren wasserfrei.

Die Substanz wurde in wenig Petroläther / Benzol (97:3) warm gelöst und nach Erkalten unberücksichtigt einer Ausfällung auf die Säule gegeben. Mit folgender eluotropen Reihe wurde chromatographiert: Petroläther 60-70°/ Benzol (97:3), (94:6), (85:15), (70:30), (50:50), (25:75), (0:100), Benzol mit steigenden Anteilen Chloroform, Chloroform rein, gegebenenfalls nach Chloroform mit schnell steigenden Anteilen Essigester und reiner Essigester.

Meist ließen sich in der angegebenen Reihenfolge die Substanzen a) bis f) eluieren, die durch Schmp., teilweise Misch-Schmp., IR- und gegebenenfalls UV-Spektrum identifiziert wurden:

a) Rote Substanz unbekannter Konstitution, ein Nebenprodukt bei der Darstellung des NABS-Derivates (XXI) des 2-Hydroxy-stea-

---

85 Gebr.Herrmann, Köln-Ehrenfeld.

86 H.Brockmann, H.Gröne, Chem.Ber. 91, 779 (1958).

rinsäure-methylesters. Nach ihrem IR-Spektrum wahrscheinlich ein Anhydrid ($\nu_{C=O}$ bei 5,64 u. 5,8 µ; 1773 u. 1724/cm); sie wurde nicht weiter gereinigt und nicht näher untersucht.

b) NABS-Ester des Äthanols, Lit.-Schmp.[38] 162-163°. Er trat dann als Begleitsubstanz auf, wenn zur Darstellung der NABS-Derivate ein von der Darstellung her verunreinigtes Säurechlorid XX verwendet worden war.

c) NABS-Ester des Methanols, Lit.-Schmp,[38] 186-187°, ein Nebenprodukt aus teilweiser Umesterung des eingesetzten Hydroxycarbonsäure-methylesters. Seine gegenüber dem NABS-Ester des Äthanols (b) nur wenig geringere Wanderungsgeschwindigkeit führte bei gleichzeitiger Anwesenheit dieser beiden NABS-Derivate zu einer gemeinsamen Bande. Eine Dünnschichtchromatographie einzelner Fraktionen der Bande machte es wahrscheinlich, daß sich der Äthylester angereichert am Kopf der Bande befand.

d) NABS-Ester des eingesetzten Hydroxy-carbonsäure-methylesters. Die Schmelzpunkte und andere Daten werden im Abschnitt VI (S.62) angegeben.

e) Nicht umgesetzter Hydroxy-carbonsäure-methylester, farblos bis gelblich.

f) 4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure, rot, Schmp.~318°(Schwarzf.).

Andere beobachtete Banden waren mengenmäßig zu gering, um näher untersucht werden zu können.

IV. Trennung der NABS-Derivate des 12- und des 18-Hydroxystearinsäure-methylesters durch Adsorptionschromatographie

Zur Trennung der NABS-Derivate des 12-Hydroxy- und des 18-Hydroxy-stearinsäure-methylesters (Derivate XXII und XXIII) diente eine auf die oben beschriebene Weise mit 10 g (8 000 - fache Menge) nicht desaktiviertem und in Petroläther / Benzol (94:6) aufgeschlämmten Kieselgel gefüllte 1-cm-Säule. 0,7 mg XXII und 0,6 mg XXIII wurden zusammen mit etwas Adsorbens in wenigen ml

des Lösungsmittelgemisches bis zu ihrer Lösung erwärmt und nach dem Erkalten auf die Säule gebracht. Mit Petroläther / Benzol (9o:1o) wurde bei einer Durchlaufgeschwindigkeit von 2 l in 24 Stdn. unter Wiederverwendung des ausfließenden Lösungsmittels chromatographiert. Nach 1o Tagen zeigte sich eine Differenzierung der etwa 4 cm weit gewanderten roten Zone, nach weiteren 4 Tagen eine vollständige Trennung in zwei Banden. Durch Erhöhung des Benzol-Anteiles im Lösungsmittel über 12, 15 und 2o % auf 3o % ließen sich innerhalb der folgenden 5 Tage die beiden Banden mit einem Abstand von 2-3 cm aus der Säule eluieren.

1.Bande: Schmp.~3o° (Schmp.von XXII: 39°); dünnschichtchromatographisch einheitlich und identisch mit XXII.
2.Bande: Schmp.1o4° (Schmp.von XXIII: 11o,5-111°); dünnschichtchromatographisch einheitlich und identisch mit XXIII.

V. Nachweis der NABS-Derivate durch Dünnschichtchromatographie

Zur Dünnschichtchromatographie nach Stahl[65] wurden die Substanzen in benzolischer Lösung auf Kieselgel-Platten[87] aufgetragen und mit Benzol entwickelt.
Die NABS-Derivate waren auf den Chromatogrammen ohne Anfärbung als rote Flecken sichtbar. Am besten ließen sich jedoch ihre R_F-Werte vermessen, wenn ihre Fluoreszenzlöschung auf der Platte im von unten durchtretenden UV-Licht durch aufgelegtes weißes Durchschlagpapier hindurch betrachtet wurde. Es gestattete gleichzeitig ein Nachzeichnen der Konturen zur Dokumentation des Chromatogrammbildes. Hydroxyfettsäureester ließen sich so nur bei höheren Konzentrationen feststellen. Zu ihrem Nachweis wurden die Platten anschließend mit Antimontrichlorid in Chlo-

[87] "Kieselgel G zur Dünnschichtchromatographie n. Stahl" der Fa. Merck, Darmstadt, mit einem 5-proz. Zusatz von "Leuchtstoff ZS Super" der Fa. Riedel-de Haen, Seelze b. Hannover.

roform besprüht und auf 1oo° erhitzt.

R_F-Werte sind in der Dünnschichtchromatographie nicht exakt reproduzierbar. Deshalb werden in dieser Arbeit R_F-Intervalle angegeben. Mitlaufende Referenzsubstanzen und das Auftragen in einem Punkt von zu bestimmender und von Referenzsubstanz sind dem bloßen R_F-Vergleich vorzuziehen.

VI. Beschreibung der dargestellten NABS-Derivate

Das NABS-Derivat (XXI) des 2-Hydroxy-stearinsäure-methylesters (I) bildete nach seiner Darstellung bei der anschließenden Chromatographie des Reaktionsproduktes die zweite rote Hauptbande. Zur Trennung vom nur wenig schneller laufenden NABS-Ester des Methanols und vom folgenden, in großer Menge vorhandenen nicht umgesetzten Hydroxyester I wurde eine größere Menge Adsorbens als gewöhnlich verwendet (s. S.59) und der Benzol-Anteil des Lösungsmittels besonders vorsichtig gesteigert. Über desaktiviertem Kieselgel begann XXI mit Petroläther/Benzol (94:6) zu wandern. Mit dem Gemisch 7o:3o wurde XXI aus der Säule eluiert. Für nicht desaktiviertes Kieselgel gilt 85:15 und o:1oo.

Ausbeute[88]: 39 % d.Th.

Schmp: Nach Chromatographie 81°; nach Craig-Verteilung (s.u.) und Umkristallisieren aus Aceton mit 4% Wasser oder aus Methanol Schmp. 83°(korr.).

Löslichkeit: Die blaßrote, amorphe Substanz löst sich bei Zimmertemperatur in Petroläther und Methanol zu 1%, in Schwefelkohlenstoff zu 3,5%. Äthanol, Propanol, Benzol, Chloroform und Aceton haben besseres Lösungsvermögen.

Craig-Verteilung (Grundprozeß) in der Mikro-Apparatur[53] im System Petroläther (9o-1oo°) / absol.Methanol bei n = 24, V = 1, T = 22° ergab die Verteilungszahl G = 1,59.

[88] Gewöhnlich berechnet nach der bei der Chromatographie oder Rechromatographie aufgefangenen Menge, oder auch -wie hiernach dem Flächeninhalt der zur Craig-Verteilung berechneten theoretischen Verteilungskurve.

Dünnschichtchromatographische R_F-Werte: zwischen o,42 u. o,55.

Infrarot-Spektrum: Das Spektrum ist in Abb.14 (S.43) wiedergegeben und im Abschnitt F (S.41) besprochen worden.

Ultraviolett-Spektrum: λ_{max}= 33o mμ (Äthanol), bzw. 333-334 mμ (Chloroform). Die molare Extinktion ε_{max}= 31.8oo liegt über den für einfache NABS-Ester gefundenen Werten (3o.88o±8oo)[38]. Darin gleicht XXI -wahrscheinlich infolge der 1,2-Stellung des chromophoren Systems zu einer Carboxymethylgruppe- den NABS-Derivaten von Phenolen[38] und den p-(4-Nitrophenyl-azo)-phenacylestern von Fettsäuren[89], für die ebenfalls höhere Extinktionen beobachtet wurden.

$C_{32}H_{45}O_6N_3$ (567,7)	ber:	C 67,7o	H 7,99	N 7,4o
	gef:	67,87	7,76	7,65

Das NABS-Derivat (XXII) des 12-Hydroxy-stearinsäure-methylesters (II) wurde bei der Chromatographie mit Petroläther / Benzol (85: 15 bis 5o:5o) eluiert.

Ausbeute 88 % d.Th. Über den Einfluß der Reaktionsbedingungen bei der Darstellung auf die Ausbeute s. Tab.2 (S.21).

Das rote Öl kristallisierte nach zweimaliger Chromatographie und zwei Craig-Verteilungen erst langsam während 14-tägigen Aufbewahrens bei +2°. Nach Umkristallisieren aus Methanol oder besser aus Aceton mit 1o-15% Wasser Mikrokristalle vom Schmp. 39°(korr.).

XXII löst sich bei Zimmertemperatur in Petroläther und in Methanol zu etwa 15%, in 83-proz.Äthanol zu 4% oder wenig mehr.

In Craig-Verteilungen wurden für drei verschiedene Lösungsmittelsysteme die in Tab.5 (S.33) und Tab.6 (S.34) aufgeführten Verteilungskoeffizienten ermittelt. Abb.8 und Abb.9 (S.35) zeigen Verteilungskurven von XXII.

R_F-Werte in der Dünnschichtchromatographie: o,34 - o,43.

IR-Spektrum: s.Abb.14 (S.43) und Besprechung S.41f.

---

[89] E.S.Amin, E.Hecker, Chem.Ber. 89, 1496 (1956).

UV: gefordert: bei 331-332 mμ ε_{max}= 30.880±800;
gefunden: bei 331 mμ ε_{max}= 30.650 (Äthanol).

$C_{32}H_{45}O_6N_3$	(567,7)	ber:	C	67,7o	H	7,99	N 7,4o
		gef:		67,8o		7,82	7,55

Das NABS-Derivat (XXIII) des 18-Hydroxy-stearinsäure-methylesters (III) ließ sich durch Petroläther mit 3o-5o% Benzol-Zusatz von der Säule eluieren.

Bei Verunreinigungen durch das NABS-Derivat (XXIV) des 16'-Hydroxy-hexadecyl-malonsäure-dimethylesters (XVIII) reicherte sich dieses beim Umkristallisieren aus Petroläther im Kristallisat an. Nach Umkristallisieren aus absol.Äthanol Schmp. 11o,5-111°(korr.).

Die Löslichkeit von XXIII ist bedeutend geringer als die der anderen beiden dargestellten Hydroxy-stearinsäure-Derivate: In mit Petroläther gesättigtem Methanol und in methanolgesättigtem Petroläther (9o-1oo°) bei Zimmertemperatur zu etwa 35 mg%.

Bei der Craig-Verteilung im System Petroläther (9o-1oo°)/ absol. Methanol G = 1,43 (n = 12, V = 1 (5o + 5o ml), T = 2o°).

R_F-Werte in der Dünnschichtchromatographie: o,32 - o,43.

IR-Spektrum: s. Abb.14 (S.43) und Besprechung S.41f.

Das UV-Spektrum zeigte die erwartete molare Extinktion:
ε_{max}= 3o.75o bei λ_{max}= 334 mμ (Chloroform).
Die Analysenwerte für XXIII wurden auf S.56 angegeben.

Das NABS-Derivat (XXIV) des 2-(16'-Hydroxyhexadecyl)-malonsäure-dimethylesters (XVIII) zeigte auf der Kieselgelsäule wie auch auf der Dünnschichtplatte (R_F = o,17 - o,28) eine geringere Wanderungsgeschwindigkeit als das NABS-Derivat (XXIII) des 18-Hydroxy-stearinsäure-methylesters. XXIV wurde mit Petroläther, der 3o-75% Benzol enthielt, von der Säule eluiert.

Ausbeute 69 % d.Th.

Schmp. der feinen, roten Nadeln: 89,5°(korr.).

XXIV löst sich in Petroläther etwas schlechter als das NABS-Derivat (XXIII) des 18-Hydroxy-stearinsäure-methylesters, in polaren Lösungsmitteln besser.

Bei der Craig-Verteilung im System Petroläther (9o-1oo°)/ absol. Methanol (n = 24, V = 1 (5o + 5o ml), T = 2o°) wurde für G = o,66 gefunden (Abb.1o, S.37).

Das IR-Spektrum von XXIV gleicht dem des 18-Hydroxy-stearinsäure-Derivates XXIII bis auf eine gering verbreiterte Estercarbonyl-Valenzschwingungsbande bei 5,78 μ (173o/cm).

Im UV-Bereich wurde bei 33o mμ für ε_{max}= 3o.4oo (Chloroform) gefunden (gefordert 3o.88o±8oo).

$C_{34}H_{47}O_8N_3$ (625,7)	ber:	C 65,26	H 7,57	N 6,72
	gef:	65,o9	7,37	6,68

Der NABS-Ester (XXV) des 16-Chlorhexadecanol-(1) (XI) wurde neben anderen NABS-Derivaten aus einem Vorversuch zur Malonestersynthese erhalten, als dessen ungereinigtes Reaktionsprodukt anschliessend mit NABS-chlorid XX umgesetzt wurde. Der Vorversuch zur Malonestersynthese war durchgeführt worden mit Natriummalonester und 16'-Chlorhexadecyl-2-tetrahydropyranyläther (XIII).

XXV wurde bei der Chromatographie mit Petroläther, der 6-15% Benzol enthielt, eluiert. Der dünnschichtchromatographische R_F-Wert lag bei o,7.

Schmp. der roten, faserigen Kristalle nach Umkristallisieren aus Propanol: 1o5°(korr.).

Das IR-Spektrum (gemessen in $CHCl_3$) unterscheidet sich von den auf S.43 abgebildeten Spektren nur durch die scharfe und keine Schulter aufweisende Carbonyl-Valenzschwingungsbande bei 5,82 μ (1718/cm).

UV: λ_{max}= 331 mμ, ε_{max}= 3o.6oo (Äthanol).

$C_{29}H_{4o}N_3O_4Cl$ (53o,1)	ber:	C 65,7o	H 7,61	N 7,93	Cl 6,69
	gef:	65,62	7,65	7,82	6,9o

Lebenslauf

Als Sohn des Drogisten Wilhelm Hempelmann und seiner Ehefrau Alwine wurde ich am 11.August 1931 in Kettwig (Reg.Bez. Düsseldorf) geboren. In Kettwig besuchte ich die ev. Volksschule und auch von 1942 an - nach fast einjähriger Evakuierungszeit in Schlesien - das jetzige Theodor-Heuss-Gymnasium. 1951 bestand ich zum Abschluß der 9. Klasse an dieser Schule das Abitur.

Nach einer Praktikantenzeit in der Engel-Apotheke, Mülheim(Ruhr), legte ich 1953 die Pharmazeutische Vorprüfung ab und bestand 1956 nach viersemestrigem Studium an der Universität Mainz und drei weiteren pharmazeutischen Semestern in Tübingen das Pharmazeutische Staatsexamen. Eine Kandidatenzeit, die ich wieder in der Engel-Apotheke verbrachte, war Voraussetzung für die 1957 erhaltene Approbation als Apotheker.

Meine Dr.-Arbeit fertigte ich, unterbrochen von einigen Vertretungszeiten in Apotheken, am Max-Planck-Institut für Biochemie, München, unter Leitung von Herrn Prof.Dr.A.Butenandt an.